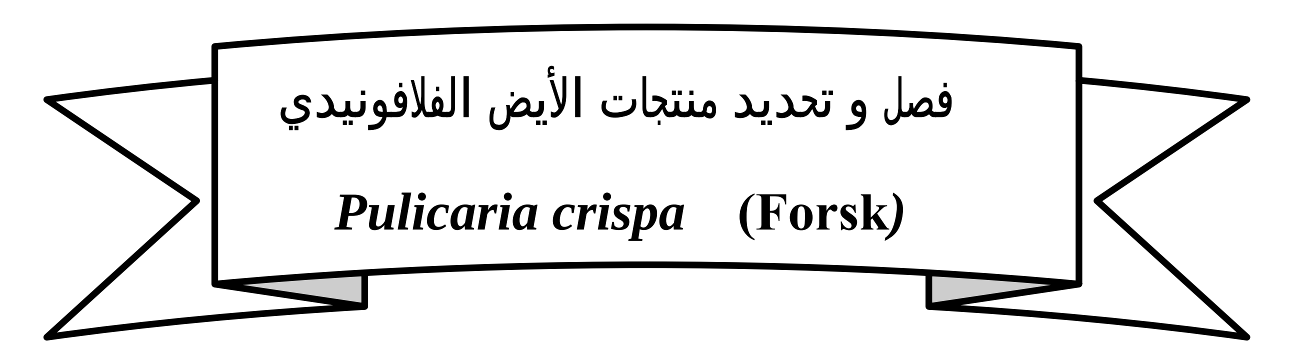
الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
جامعة منتوري قسنطينة

كلية العلوم الدقيقة قسم الكيمياء

رقم الترتيب ....

رقم التسلسل ....

مذكرة
مقدمة لنيل شهادة الماجستير في العلوم
تخصص كيمياء عضوية
شعبة كيمياء النبات
تحت عنوان



فصل و تحديد منتجات الأيض الفلافونيدي

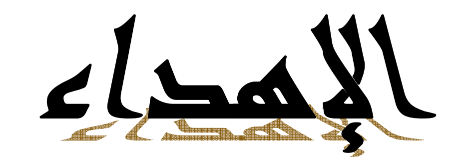
Pulicaria crispa **(Forsk)**

تقديم:
عاشوري آمال

تحت إشراف الأستاذ:
د. حسين دندوقي

لجنة المناقشة:

- د. فضيلة بن عياش أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة رئيسة
- د. حسين دندوقي أستاذ محاضر بجامعة ق. مرباح ورقلة مقررا
- د. سمير بن عياش أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة ممتحنا
- د. عبد الحميد بلعطار أستاذ بجامعة منتوري قسنطينة ممتحنا
- د. نور الدين بغيجة أستاذ محاضربجامعة منتوري قسنطينة ممتحنا



أهدي ثمرة هذا الجهد إلى:

والدي الكريمين حفظهما ا   و رعاهما

***إلى كل من تشدد بهم الأزر:

أخي الكريم زكرياء

أخواتي الكريمات : ليلى ، كوثر ، رتيبة ، حفيظة (رانيا).

و إلى كل الأهل و الأحباب

تشكرات

الحمد   أولا و آخرا، الذي وفقني و هيأ لي من الظروف ما به مكنني من إنجاز هذا البحث.

أتقدم بالشكر و الثناء للدكتور حسين دندوقي لقبوله الإشراف على هذا العمل، و على توجيهاته و نصائحه لإنجاز هذه العمل على أكمل وجه.

كما أتقدم بتشكراتي الخالصة للأستاذة فضيلة بن عياش أستاذة بجامعة منتوري قسنطينة على تفضلها بقبول رئاسة لجنة مناقشة هذه الرسالة كما أنوه بجميل ما أسدته إلي من مساعدات وتوجيهات.

أتقدم بجزيل الشكر للأستاذ سمير بن عياش لاستقباله لنا في مخبره و توفيره لمختلف الوسائل والتجهيزات لانجاز هذا العمل، و على قبوله المشاركة في لجنة المناقشة.

امتناني إلى أعضاء لجنة المناقشة: الأستاذ عبد الحميد بلعطار، والأستاذ نور الدين بغيجة لتشريفهم لهذا العمل بتقييمه و تصحيح أخطائه.

و أخيرا شكري الخالص لكل من ساعدني في إنجاز هذا العمل بتوجيهاته و دعمه خاصة الأساتذة: بوهروم محمد، صغيري رمضان، ميكيو رتيبة، بومعزة وهيبة، مشهود يوسف، بهلول الشريف، قلي الحاج، زعيتر لحسن.

كما أقدم تشكراتي الخالصة للصديقات و ما أكثرهن ممن تشد بهم العزائم في أصعب الأوقات: لمياء، سعاد، ليلى، نسيمة، نصيرة، ليندة، سامية، وصاف، سعيدة، كوثر، زهية، حنان، وهيبة، صبرينة، ليلى، ليديا، مفيدة.

و إلى الزملاء في المخبر: سهام، حنان، فيروز، ماجدة، سميرة، عمار، عبد الرحمان، رضوان.....

المختصرات

CCM : Chromatographie sur couche mince

CC : Chromatographie sur colonne

CP : Chromatographie sur papier

$\mathbf{R_f}$: Facteur de retardement (retardation factor)

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire

$\mathbf{^{13}C}$: Carbone 13

$\mathbf{^{1}H}$: Proton

ppm : Partie par million

δ : Déplacement chimique

***J*(Hz) :** Constante de couplage exprimée en hertz

s : Singulet
d : Doublet

dd : Doublet de doublets

m : Multiplet

SMIE : Spectrométrie de masse en mode impact électronique

m/z : Masse / charge électrique

UV : **U**ltra _**V**iolet

الفهرس

المقدمة.. 2
المراجع.. 4

الفصل الأول: الدراسة النظرية لنبات الجثجاث *Pulicaria crispa*

1- التصنيف النظامي للنبتة.. 6
2-الوصف النباتي للنوع و توزيعه الجغرافي.............................. 6
3- الدراسات المنجزة على نبات الجثجاث................................ 8
4-المسح الكيميائي لجنس *Pulicaria*.. 9
5-المسح البيولوجي لنبات الجثجاث...................................... 13
المراجع.. 14

الفصل الثاني: الفلافونيدات

1-مقدمة 21
2-تعريف الفلافونيدات... 21
3-الاصطناع الحيوي للفلافونيدات... 22
4- استبدال الهيكل الفلافونيدي.. 27
5-أقسام الفلافونيدات 30
6-توزيع الفلافونيدات.. 35
7-خواص الفلافونيدات... 36
8-كيمياء الفلافونيدات... 37
9-اصطناع الفلافونيدات.. 40
10-أهمية الفلافونيدات بالنسبة للنباتات................................. 42
11-الفعالية البيولوجية للفلافونيدات..................................... 43
12-الدراسة الكيميائية للفلافونيدات...................................... 45
1-الاستخلاص... 45
2-الفصل و التنقية... 45
3-التعيين البنيوي للفلافونيدات.. 47
المراجع.. 61

الفصل الثالث: الجزء العملي

الدراسة الكيميائية لنبات *Pulicaria crispa*................................ 69

I ـ المادة النباتية.. 69

II ـ الاستخلاص.. 69

III- عمليات الفصل 71

الفصل الرابع: النتائج و المناقشة

التعيين البنيوي للمركبات المفصولة.. 78

I-التعيين البنيوي للمركب $E \equiv F_{421} \equiv F_{4P}$ 79

II-التعيين البنيوي للمركب $C \equiv D_P \equiv D_{P1} \equiv D_6 \equiv F_{P2}$ 87

III-الحصيلة و النظام الحيوي الوراثي 95

الخاتمة... 97

المقدمة

اعتقد الكثيرون أن الأدوية المصنعة سوف تحل محل النباتات الطبية المستعملة في الطب الشعبي، و كان من المتوقع أن يتراجع المرض أمام هذه الثورة الكاسحة من علم العقاقير. لكن الذي حدث هو العكس تماما؛ فقد عرف الإنسان الحديث أمراضا لم تكن معروفة أو منتشرة من قبل، بل دخل عصر الأمراض المزمنة، و يرجع ذلك إلى الاستعمال اللامحدود للمواد الكيميائية في جميع مجالات الحياة، فلوثت بيئة الإنسان، و بالتالي أثرت على صحته و قوته، و مناعته في مقاومة الأمراض، كذلك فإن الأدوية المصنعة مازال الكثير منها يفتقر إلى معلومات أوفى؛ و مازال البحث العلمي يحمل لنا الكثير من الآثار الجانبية الضارة لبعض الأدوية المصنعة، إما بسبب نقص المعرفة عنها، و إما لأنها مواد كيميائية مركزة تم تحضيرها في المعمل تحت ظروف قاسية. بينما أبت حكمة الخالق عز وجل إلا أن تجعل المواد الفعالة في النباتات بتراكيز مخفضة يمكن للجسم البشري التفاعل معها برفق في صورتها الطبيعية، قال سبحانه و تعالى في كتابه الكريم: ألم تروا أن ا سخر لكم ما في السموات و ما في الأرض و أسبغ عليكم نعمه ظاهرة و باطنة [لقمان الآية20].

و نظرا لتربع الجزائر على مساحات شاسعة فقد أكسبها ذلك وجود تضاريس و ظروف مناخية متعددة و قد انعكس ذلك على النمط النباتي، مما جعلها من البيئات النباتية النادرة حيث تنوع الغطاء النباتي و تدرج من الغابات الرطبة الكثيفة إلى النباتات الجافة الصحراوية المبعثرة والمحدودة الانتشار، و انعكس ذلك بدوره على وجود العديد من الفصائل، الأجناس و الأنواع النباتية (تنوع الفلورا نفسها) و على وجود العديد من الأنماط البيئية Ecotypes و الأنماط الحيوية Biotypes، وترتب عن هذا كله نمو مئات من الأنواع النباتية البرية المختلفة و التي بدورها تضم العديد من النباتات الطبية، و بالرغم من الأهمية التي تكتسبها البحوث في مجالات النباتات الطبية إلا أن نباتات المناطق الصحراوية تعتبر من النباتات التي لم تحظ بالاهتمام الكافي في المجالات المختلفة، وحتى خلال الحقبة الاستعمارية لم تبذل جهود كافية في هذا المجال، عدا بعض

المجهودات الفردية التي لم تكن لها علاقة بالتنمية و الاستثمار. إلى جانب ذلك فان الصحراء تحتل جزءا كبيرا من المساحة الكلية للجزائر مما يتيح انتشارا معتبرا للنباتات الطبية، أو بالأحرى النباتات الأصيلة. و نظرا للمميزات البيولوجية الخاصة و وجود مناطق صعبة للحياة مشكلة حواجز عديدة تحول دون انتشار الأنواع النباتية، كل هذه العوامل تجعل أصالة النباتات على وجه الخصوص تكثر. إذ كل درجات الأصالة متوفرة، فبعض النباتات ذات مساحة انتشار تمتد من الجنوب المغربي حتى طاسيلي ناجر، فهي أصيلة صحراوية بالمعنى الشامل، وبعضها محدود ببضعة كيلومترات، وأخرى عبارة عن أنواع حقيقية خالصة، جد متفردة، و أحيانا تكون وحيدة جنسها [1]، و تحتوي الصحراء الشمالية 162 نوع من النباتات الأصيلة أي ما يقارب 25% من الغطاء النباتي لتلك المناطق [2].

و رغم هذا التنوع في مناخات الجزائر ما يعني الوفرة في الغطاء النباتي خاصة بالنسبة للنباتات الطبية، حيث يصل عدد النباتات إلى 3000 نبتة تنتمي إلى مختلف العائلات النباتية، 15% منها محلية [2]، لكن تبقى الأبحاث بخصوصها قليلة سواء على مستوى الفيتوكيمياء أو في مجال الفارماكولوجيا.

و في الوقت الحالي بدأ الباحثون الجزائريون و حتى الأجانب في استغلال الثروة النباتية في الجزائر في مجال الكيمياء والطب. لذا كان الهدف من بحثنا استخلاص الأيض الثانوي الفلافونيدي لإحدى النباتات الصحراوية *Pulicaria crispa*.

إذ تضمنت المذكرة مقدمة و أربعة فصول، في الفصل الأول تطرقنا للتعريف بالنبتة من حيث التصنيف والتوزيع وكذا الأبحاث التي أجريت عليها سابقا، أما الفصل الثاني فيحتوي الدراسة النظرية للفلافونيدات، و الفصلين الثالث و الرابع تضمنا الجزء العملي، النتائج و المناقشة، و في الأخير خاتمة تلخص النتائج المتحصل عليها.

المراجع

[1] Dendougui, H. (2002), Thèse de Doctorat d'Etat de l'Université de Constantine.

[2] Ozenda, P. (1962), Flore du Sahara. Ed. CNRS, PARIS France.

الفصل الأول :

الدراسة النظرية لنبات الجثجاث

1 - التصنيف النظامي للنبتة:

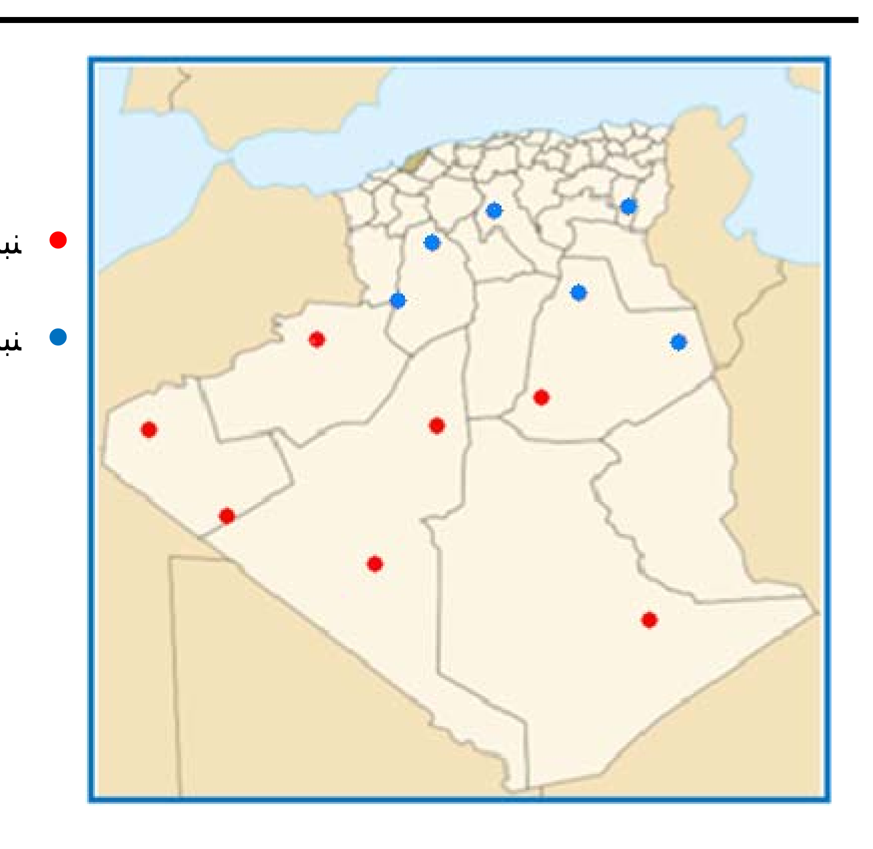
نلخصه في الجدول(1):

الجدول-1-التصنيف النظامي لنبات الجثجاث

الفرع	كاسيات البذور	Spermatophytae	**Embranchement**
تحت الفرع	النباتات البذرية	Angiospermae	**Sous embranchement**
الصنف	ذوات الفلقتين	Dicotylédones	**Classe**
الرتبة	الناقوسيات	Campanulaes	**Ordre**
العائلة	المركبة	Compositae	**Famille**
تحت العائلة	الأنبوبية	Tubuliflorae	**Sous famille**
القبيلة	الأنيولية	Inuleae	**Tribu**
الجنس		*Pulicaria*	**Genre**
النوع		***Pulicaria crispa***	**Espèce**

2-التوزيع الجغرافي و الوصف النباتي للنوع:

يتوزع جنس *Pulicaria* بين أوروبا، إفريقيا و آسيا، ليشمل 80 نوعا يوجد 5 منها بأوروبا [1، 2]، أما بالجزائر فيوجد 16 نوعا، من ضمنها 4 بالصحراء [3، 4، 5] و يدعى النوع: *Pulicaria crispa* (Forsk). Benth. et Hook (*Francoeuria crispa* (Cass)): محليا بالشويحية (الجثجاث)، و يوجد بصحراء الجزائر موزعا حسب الخريطة في الشكل (1).



● نبات الجثجاث كثير الوفرة.

● نبات الجثجاث متوسط الوفرة.

الشكل-1- : خريطة توزيع نبات الجثجاث في صحراء الجزائر

Pulicaria crispa: نوع معمر، تحت شجيري، يتراوح ارتفاعه بين 40-60 سم، سيقانه منتصبة أو صاعدة صوفية متفرعة ذات أغصان ثنائية الدوالي، ذو رؤوس عديدة قطرها 5 ملم، عنقودية متفرعة، و حراشف قلافة، هذه الأخيرة خطية حادة جرداوية، و الأشعة ليست أطول من القلافة، الأوراق عنكبوتية، خطية ملعقية، مجوفة مسننة بحدة، و برية، صوفية ذات نصل متموج متقاص على حوافها، فقيرة الثمرة، ريشية في القمة فقط [3] والصورة الفوتوغرافية للشكل(2) توضحها.



Pulicaria crispa

الشكل-2-: صورة فوتوغرافية لنبات الجثجاث

3-**<u>الدراسات المنجزة على نبات الجثجاث:</u>**

لقد أنجزت مجموعة كبيرة من الأعمال من قبل الباحثين [8-12] لدراسة و معرفة محتويات نبات الجثجاث و من المركبات التي لقيت عناية كبيرة: الفلافونيدات [6، 7، 13-16]، الكومارينات [14-17]، الطانينات و القلويدات [14]، التربينات الثلاثية [7، 14]، التربينات الثنائية والجليكوزيدية [18]، السيسكويتيربينات[19].

4-المسح الكيميائي لجنس *Pulicaria*:

يتميز هذا الجنس بغناه بمختلف منتجات الأيض الثانوي من: الفلافونيدات، الأسيتيلينات (acétylènes)، السيسكويتيربينات اللاكتونية، البيتاكاريوفيلان (β-caryophyllene)، و مشتقات التيمول (thymol derivatives) [1، 3، 4، 5].

في الجدولين (2) و (3) ملخص لمختلف نواتج الأيض الثانوي المستخرجة من جنس *Pulicaria*:

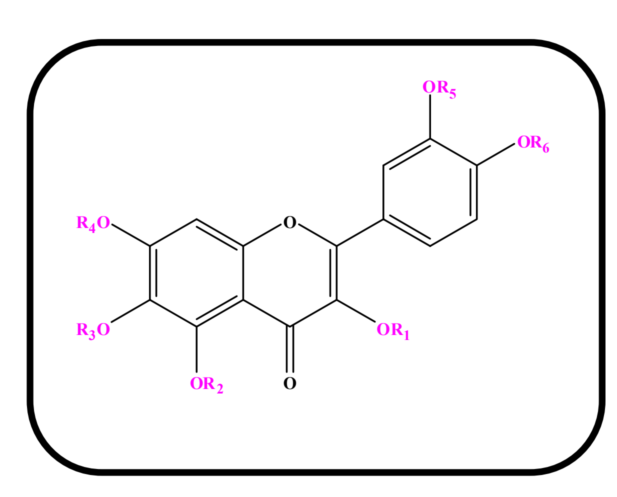
الجدول-2-الفلافونويدات المستخرجة من جنس ***Pulicaria***

رقم المركب	البنى	المصدر	المرجع
1	Quercetin	*P. crispa*	[15]،[30-31]، [13]
2	Quercetin 3-methyl ether	*P. crispa*	[15]
		P. insica	[28]
3	Quercetin 7-methyl ether (Rhamnetin)	*P. undulata*	[32]
4	Quercein 3,7-dimethyl ether	*P. undulata*	[26]، [32]
		P. insica	[28]
5	Quercetin 3-glucoside	*P. arabica*	[25]
		P. crispa	[15]
6	Quercetin 3-galactoside	*P. insica*	[28]
7	Quercetin 3-glucuronide	*P. arabica*	[25]
		P. dysenterica	[20]
8	Quercetin 7-glucoside	*P. crispa*	[15]
		P. undulata	[32]
9	Rhamnetin 3-galactoside	*P. crispa*	[30]، [13]
10	Quercetin 7-glucuronide	*P. sicula*	[1]
11	Quercetin 3-rutinoside	*P. paludosa*	[1]
12	Quercetin 3-rhamnoglucoside	*P. paludosa*	[1]
13	Quercetin 3-diglucuronide	*P. paludosa*	[1]
		P. sicula	
14	Isorhamnetin 3-glucoside	*P. paludosa*	[1]
15	Isorhamnetin 3-galactoside	*P. paludosa*	[1]
16	Isorhamnetin 3-rhamnoglucoside	*P. paludosa*	[1]
17	Isorhamnetin 3-rhamnogalactoside	*P. paludosa*	[1]
18	Patuletin 7-glucoside	*P.odora*	[1]

19	Quercetagetin 3,7-dimethyl ether	*P. dysenterica*	[20]، [22]
		P. arabica	[25]
20	Quercetagetin 3’,4’-dimethyl ether	*P. arabica*	[24]
21	Quercetagetin 3,5,7-trimethyl ether	*P. arabica*	[25]
22	Quercetagetin 3,7,3’-trimethyl ether	*P. dysenterica*	[20]
23	Quercetagetin 3,7,4’-trimethyl ether (oxyayanin B)	*P. dysenterica*	[23]
24	Quercetagetin 3,5,7,3’-tetramethyl ether	*P. arabica*	[25]
25	Quercetagetin 3,7,3’4’-tetramethyl ether	*P. dysenterica*	(20]
26	Quercetagetin 3,5,6,7,3’-pentamethyl ether	*P. arabica*	[24]
27	Quercetagetin 3,5,6,7,4’-pentamethyl ether	*P. arabica*	[24]
28	Kaempferol	*P. crispa*	[31]
29	Kaempferol 3-methyl ether	*P. undulata*	[26]
		P. insica	[28]
30	Kaempferol 7-methyl ether (Rhamnocitrin)	*P. undulata*	[32]
31	Kaempferol 3-glucoside	*P. dysenterica*	[20]، [23]
32	Kaempferol 3-galactoside	*P. insica*	[28]
33	5,6,8-trihydroxy-7,4’-dimethoxy flavone	*P. paludosa*	[21]
34	Apigenin 7-glucoside	*P. crispa*	[30]، [13]
35	Scutellarein	*P. dysenterica*	[22]
36	Scutellarein 7,4’-dimethyl ether	*P. paludosa*	[21]
37	Dihydroquercetin (taxifolin)	*P. undulata*	[26]
38	Dihydroquercetin 7-methyl ether	*P. undulata*	[26]
		P. insica	[28]
39	Dihydroquercetin 7,3’-dimethyl ether	*P. undulata*	[26]
40	Dihydrokaempferol	*P. undulata*	[26]، [32]
41	Dihydrokaempferol 7-methyl ether	*P. undulata*	[27]
42	Eriodictyol 7-methyl ether	*P. undulata*	[27]
43	6-hydroxy kaempferol 3,6-dimethyl ether	*P. paludosa*	[21]
44	6-hydroxy kaempferol 3,7-dimethyl ether	*P. dysenterica*	[20]، [22]
45	6-hydroxy kaempferol 3-methyl ether 6-glucoside	*P. dysenterica*	[22]
46	6-hydroxy kaempferol 3,6,7-trimethyl ether	*P. dysenterica*	[22]
47	6-hydroxy kaempferol 3,7,4’-trimethyl ether	*P. dysenterica*	[20]
48	6-hydroxy kaempferol 6-methyl ether7-glucoside	*P.odora*	[1]
49	Sulphated 6-hydroxy flavone	*P. burchardii*	[29]
50	Traces of sulfated flavonoid	*P. arabica*	[25]

المركب	R_1	R_2	R_3
1	H	H	H
2	Me	H	H
3	H	Me	H
4	Me	Me	H
5	Glu	H	H
6	Gal	H	H
7	Gluc	H	H
8	H	Glu	H
9	Gal	Me	H
10	H	Gluc	H
11	Rut	H	H
12	Rha-glu	H	H
13	Diglu	H	H
14	Glu	H	Me
15	Gal	H	Me
16	Rha-glu	H	Me
17	Rha-gal	H	Me

المركب	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6
18	H	H	Me	Glu	H	H
19	Me	H	H	Me	H	H
20	H	H	H	H	Me	Me
21	Me	Me	H	Me	H	H
22	Me	H	H	Me	Me	H
23	Me	H	H	Me	H	Me
24	Me	Me	H	Me	Me	H
25	Me	H	H	Me	Me	Me
26	Me	Me	Me	Me	Me	H
27	Me	Me	Me	Me	H	Me



المركب	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
28	OH	H	H	H	H
29	OMe	H	H	H	H
30	OH	H	Me	H	H
31	OGlu	H	H	H	H
32	OGal	H	H	H	H
33	H	OH	Me	OH	Me
34	H	H	Glu	H	H
35	H	OH	H	H	H
36	H	OH	Me	H	Me

المركب	R_1	R_2	R_3
37	OH	H	OH
38	OH	Me	OH
39	OH	Me	OMe
40	OH	H	H
41	OH	Me	H
42	H	Me	OH

المركب	R_1	R_2	R_3	R_4
43	Me	Me	H	H
44	Me	H	Me	H
45	Me	Glu	H	H
46	Me	Me	Me	H
47	Me	H	Me	Me
48	H	Me	Glu	H

Glu : Glucose
Gal : Galactose
Rut : Rutinose
Gluc : Glucuronide
Rha-glu : Rhamnoglucosyl
Rha-gal : Rhamnogalactosyl
Digluc : Diglucuronide

الجدول-2-مختلف نواتج الأيض الثانوي المستخرجة من جنس *Pulicaria*

المركبات	المراجع
(les huiles essentiels) الزيوت الأساسية	[32]، [36]
(les coumarines) الكومارينات	[22]، [23]، [35]
(les dérivées de thymol) مشتقات التيمول	[23]، [27]
(les alkaloides) القلويدات	[35]
السيسكويتيربينات اللكتونية ومشتقاتها (les sesquiterpene lactones et ces dérivées)	[19]، [33]، [38]، [40]، [41]، [43]، [50]
(les terpenoides) التربينات (les triterpenes) التربينات الثلاثية Les guianolides et eudesmanolides Les guaianolide sesquiterpenes Germacrane sesuiterpenes	[49] [7] [46] [34] [45]
(les dérivées du caryophylenes) مشتقات الكاريوفيلان	[21]، [42]، [44]، [47]
les dérivées du acide hardwickiic	[48]
Les isopimarane	[37]

5-<u>المسح البيولوجي لنبات الجثجاث:</u>

يستخدم الجثجاث في الطب الشعبي لأغراض متعددة [6، 51] فتستعمل أوراقه في دولة البحرين كمدر للبول [52]، ويستعمل النبات في علاج النزلة البردية، آلام القولون، و كمعرق مفرط، طارد للغازات (carminative) [7]، و يعهد إليه معالجة الالتهابات، و هو طارد للحشرات [55،54،41]، لذا استعملت أوراقه و أوراق باقي الأنواع الأخرى لجنس *Pulicaria* كمصدر للمبيدات الحشرية، و يعتبر أحد أنواع *Inuleae* الثلاثة الأكثر شيوعا في الاستعمال التطبيبي التقليدي [29]، و تعد أزهاره مثيرة للعطاس (sternutatoire) لذا تحضر و تستعمل كمسحوق معطس [55]، إلى جانب ذلك يستعمل النبات في غسل البواسير hémorroïdes و معالجة السرطان المهبلي [56].

المراجع

[1] Williams, C.A., Harborne, J.B., Greenham, J.R., Grayer, R.J., Kite, G.G., Eagles, J. (2003), Phytochemistry. Vol. 64, 275-283.

[2] Ratdiffe, D., Tutin, T.G., Heywood, V.H., Burgee, N.A., Moore, D.M., Valentine, D.H., Walters, SM., DA Webb. (1976), In: Flora Europaea. Vol. 4, p. 137, edit, Cambridge University Press.

[3] Anderberg, A.A. (1991), Plant Systematics and Evolution. 176, 75.

[4] Quezel, P., Santa, S. (1963), «Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales». Vol. II, p.949, CNRS. Paris.

[5] Ozenda, P. (1958), «Flore du Sahara Septentrional et Central». p.430, CNRS Paris.

[6] Rizk, A.M., Ismail, S.I. (1982), Planta. Medica. 45, 146.

[7] Sarg, T.M. (1975), Egypt. J. Pharm. Sci. Vol. 16 (4), 421.

[8] Lanzetta, R., Lama, G., Mauriello, P., Racioppi, R., Sodano, G. (1991), Phytochemistry. Vol. 30, 1121.

[9] Bohlman, F., Mahanta, P.K., Jakupovic, J., Rastogi, R.C., Natu, A.A. (1978), Phytochemistry. 17, 1165.

[10] McMillan, C., Chàfez, P.I., Pletman, S.G., Mabry, T.J. (1975), Biochem, Syst. Ecol. 2, 181.

[11] Marcinek-hüpen-Bestendonk, C., Willuhn, G., Steigel, A., Wendish, D., Middelhauve, B., Wiebke, M., Mootz, D. (1990), Planta. Medica. 56, 104.

[12] Bohlman, F., Czeron, H., Chönewei B, S. (1977), Chem, Ber. 110, 1330.

[13] Rizk, A.M., Ismail, S.I. (1981), Inter. Symp. Medicinal plants, Halkidiki, (book of Abstracts). 71. 14-19 Sept 1981 Greece.

[14] Rizk, A.M., Heiba, H.I., Ma'Ayergi, H.A., Batanouny, K.H. (1986), Fitoterapia. Vol. 57 (1), 3.

[15] Rizk, A.M., Hammouda, F.M., Ismail, S.I., Hussiney, H.A. (1993), Qatar. Univ, Sci. J. Vol. 13 (1), 51.

[16] Schulte, K.E., Reisch, J., Hopmann, J. (1963), Arch. Pharm. 296,353.

[17] Khalil, A.M., El-Tawil, B.A.H., Ashy, M.A., Elbih, F.K.A. (1981), Pharmazie. Vol. 36 (8), 569.

[18] Abdel-Mogib, M., Jakupovic, J., Dawidar, A.M., Metwally, M.A., Abou-Alzahab, M. (1990), Phytochemistry. Vol. 29 (8), 2581.

[19] Dendougui, H., Benayache, S., Benayache, F., Connoly, J.D. (2000), Fitoterapia 71, pp. 373–378.

[20] Williams, C.A., Harborne, J.B., Greenham, J. (2000), Biochemical Systematics and Ecology. Vol. 28, 679–687.

[21] San Feliciano, A., Medarde, M., Gordaliza, M., Olmo, E del., Miguel del Corral, J.M. (1989), Phytochemistry. Vol. 28, pp. 2717–2721.

[22] Pares, J.O., Oksuz, S., Ulubelen, A., Mabry, T.J. (1981), Phytochemistry. Vol. 20, 2057.

[23] Schulte, K.E., Rücker, G., Müller, F. (1968), Archiv der Pharmazie. 301, 115-119.

[24] Melek, F.R., El-Ansari, M.A., Hassan, A., Regaila, A., Ahmed, A.A., Mabry, T.J. (1988), Revista Latinoamericano de Quimica. 19, 119–120.

[25] El-Negoumy, S.I., Mansour, R.M.A., Saleh, N.A.M. (1982), Phytochemistry. 21, 953–954.

[26] Abdel-Mogib, M., Dawidar, A.M., Metwally, M.A., Abou-Elzahab, M. (1989), Pharmazie. 44, 801.

[27] Metwally, M.A., Dawidar, A.M., Metwally, S. (1986), Chem. Pharm. Bull. 34, 378-379.

[28] Mansour, R. M. A., Melek, F. R., Saleh, N. A. M. (1990), Fitoterapia. 61, 186-187.

[29] Heywood, V.H., Harborne. J.B., Turner, B. L. eds. (1977), pp. 359, 603. Academic Press, London.

[30] Rizk, A M., Ismail, S I. (1982), Planta Medica. 45, 146.

[31] Kapoor, B.B.S. (2003), Priydershan Ranga. Plant Physiology and Biochemistry Laboratory, P.G. Department of Botany, Dungar College, Bikaner - 334 001, India. Journal of Phytological Research. Vol. 16 No. 1. 101-102.

[32] Bishay, D.W., Gomaa, C.S., Assaf, M.H. (1982), Bull.Pharm.Sci.,Assiut Univ. 5,65-71.

[33] Jorgev, T., Mariana, L., Francisco, J.P., Javier, G., José, Q., Francisco, E., Francisco, L., Jaime, B. (2005), J. Nat. Prod. Vol. 68(4): p. 523-531.

[34] Michael, S., Mathew, K.T., Andrew, G., Steven D, S., Robert A, F., Gibbons, S. (2008), J.Phytochem.

[35] Rizk, A.M., Heiba, H.I., Ma'Ayergi, H.A., Batanouny, K.H. (1985f), Fitoterapia. 56.

[36] Assaf, M.H., Ali, A.A.(1996), 1st Internat. Conf. on Basic Sci. & Advanced Tech. Nov. 9-12, Assiut.

[37] Chiplunkar, Y.G., Nagasampagi, B.A. (1992), Journal of Natural Products. Vol. 55(9): p. 1328-1329.

[38] Abdel-Mogib, M., Jakupovic, J., Dawidar, A.M., Metwally, M.A., Abou-Elzahab, M. (1990), Phytochemistry. Vol. 29(8): 2581-4.

[39] Al-Yahia, M.A., El-Sayed, A.M., Mossa, J.S., Kozlowski, J.F., Antoun, M.D., Ferin, M.M., Cassady, J.M. (1988), J. Nat. Prod. Vol. 51(3): 621-4.

[40] Al-Yahya, M.A., Khafagy, S., Shihata, A., Kozlowski, J.F., Antoun, M.D., Cassady, J.M. (1984), J. Nat.Prod. Vol. 47(6), 1013-17.

[41] Bohlmann, F., Knoll, K.H., El-Emary, N.A. (1979), Phytochemistry. Vol. 18(7): 1231-3.

[42] Bohlmann, F., Zdero, C. (1981), Phytochemistry. Vol. 20(11): pp. 2529-2534.

[43] Zdero, C., Bohlmann, F., Rizk, A.M. (1988), Phytochemistry. Vol. 27(4): pp. 1206-1208.

[44] Hafez, S., Sarg, T.M., El-Domiaty, M.M., Ahmed, A.A., Melek, F.R., Bohlmann, F. (1987), Phytochemistry. Vol. 26(12): p. 3356-3358.

[45] Mossa, J.S., Al-Yahya, M.A., Hifnawy, M.S., Shehata, A.A., El-Feraly, F.S., Hufford, C.D., McPail, D.R., McPail, A.T. (1990), Phytochemistry. Vol. 29(5): p. 1595-1599.

[46] Rustayan, A., Habib, Z., Saberi, I.M., Jakupovic, J. (1991), Phytochemistry. Vol. 30(7): p. 2405-2406.

[47] Bohlmann, F., Ahmed, M., Jakupovic, J. (1982), Phytochemistry. Vol. 21(7): pp. 1659-1661.

[48] Rustriyan. A., Simozar, E., Ahmadi, A., Grenz, M., Bohlmann, F. (1981), Phytochemistry. Vol. 20(12):, pp. 2772-2773.

[49] Muhammad, I., El-Feraly, F. S., Mossa, J.S., Ramadan, A.F. (1992), Phytochemistry. Vol. 31(12): pp. 4245-4248.

[50] Basta, A., Tzakou, O., Couladis, M., Pavlovic, M. (Jul/Aug 2007), From Grece. Journal of Essential Oil Research: JEOR.

[51] Batanouni, K.H. (1981), Sci. Appl. Res. Cent. (Qatar Univ). Alden Press U.K.

[52] Saleh, F.S., Ali, H.H., Mirza, M. (1993), Fitoterapia. 64, 251.

[53] Farnsworth, N.R. (1966), J. Pharm. Sci. 55, 225.

[54] Alyahya, M.A., El-Sayed, A.M., Mossa, J.S., Antoun, M.D., Ferin, M., Baird, W.M., Casady, J.M. (1988), J. Nat. Prod. 51(3), 621.

[55] Boulos, L. (1983), Reference Publications, Inc, Michigan. USA.

[56] Watt. J.M., Breyer-Brandwlik, M.C. (1962), p.255, E and S. Livingtone Ltd. Edinburgh.

الفصل الثاني

اللافونيدات

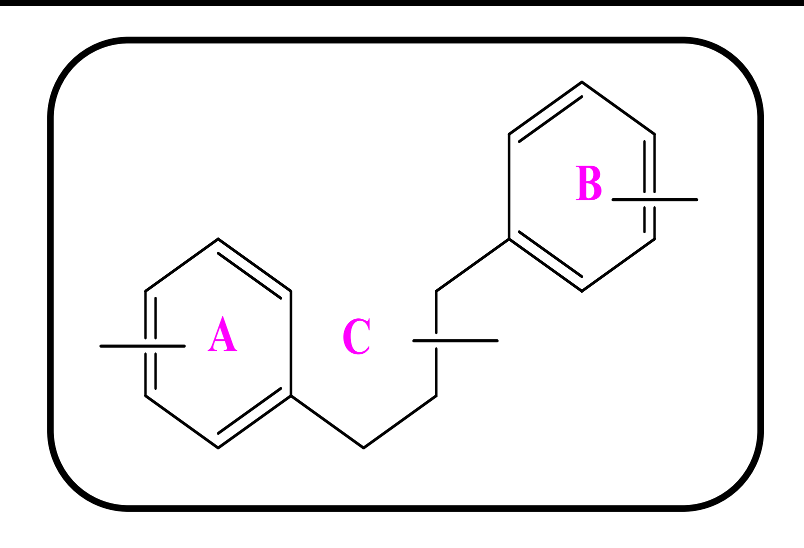
1-مقدمة:

لقد حازت الفلافونيدات منذ مدة على اهتمام العديد من العلماء خاصة منهم الكيميائيين، علماء التغذية و الأطباء المعالجين بالمواد الطبيعية، باعتبارها من أهم المجموعات الفينولية و القسم البالغ الأهمية من نواتج الأيض الثانوي التي تحدث في جميع خلايا و أنسجة النباتات و الدليل على ذلك أنه تقريبا 9000 نوع من الفلافونيدات في صورتها الإيتيروزيدية و الأجليكونية تم استخراجها طبيعيا من النبات [1]. و كذلك لما لها من فوائد سواء منها العلاجية أو الغذائية.

2-تعريف الفلافونيدات:

مصطلح الـ Flavonoide في اللغة اللاتينية مشتق من الكلمة اليونانية Flavus و تعني أصفر، و هي عبارة عن صبغات نباتية موزعة على جميع أجزاء النبات، و بشكل أكبر في الجزء الهوائي منه، مسؤولة عن ألوان الأزهار، الفواكه و أحيانا الأوراق [2]، و تتوزع بشكل واسع وتنوع كبير في النباتات الراقية خاصة كاسيات البذور(Angiospermes)، و بصفة متوسطة عند عاريات البذور و شبه منعدمة في الفطريات و الطحالب [3].

و قد اكتشفت الفلافونيدات من طرف عالم الكيمياء الحيوية "Albert Szent-Györgyi" و الذي صنفها على أساس أنها فيتامين P و أدرك أنها تزيد و تعزز من دور الفيتامين C [4]، أما كلمة فلافونيد فقد أدخلت عام 1952 م من طرف "Geissman" إشارة إلى جميع المركبات ذات البنية البسيطة نسبيا و التي تتكون من 15 ذرة كربون موزعة على الشكل (C_6-C_3-C_6) و هي عبارة عن وحدتين عطريتين C_6 (A et B) ترتبطان بسلسلة غير متجانسة من 3 كربونات (شكل1) [5].



الشكل-1- : الهيكل القاعدي للفلافونيدات

3-الاصطناع الحيوي للفلافونيدات:

الاصطناع الحيوي للمركبات هو الطريقة التي تتكون بها هذه المركبات داخل مصادرها الطبيعية و ذلك عن طريق تفاعلات الأكسدة، الإرجاع، الألكلة، الحلمهة...الخ و هذا يتم بتوافر إنزيمات خاصة.

و لمتابعة هذه الآليات تم إجراء تجارب عدة باستعمال النظائر الموسومة بـ ^{14}C المشع، ففي سنة 1936 [6] لاحظ الباحث Robinson أن استبدال النواتين البنزينيتين للمركبات الفلافونويدية مختلف جوهريا كما يوضحه الشكل(2). فاستنتج بأن ليس لهما نفس الأصل الوراثي الحيوي.

و عليه تتم عملية الاصطناع الحيوي خلال ثلاث مراحل:

$3CH_3COOH$ +

Ac.acétique

Ac.p-coumarique

$3H_2O$

chalcone

الشكل-2-: توضيح اصطناع نواة الشالكون باستعمال النظائر الموسومة

3-1-المرحلة الأولى:

- **طريق حمض الشكيميك:**

أثبت الباحث Davis سنة 1955 [6] دور حمض الشكيميك في تكوين الحلقة B الكربونية والسلسلة الثلاثية C_3 و ذلك بدءا بالجلوكوز ، كما هو موضح في المخطط (1).

المخطط-1-: تكوين حمض p-coumarique انطلاقا من الجلوكوز ومرورا بحمض الشكيميك

و الإنزيمات المشاركة في تكوين حمض p-coumarique موضحة في الجدول (1).

يليه تحول الناتج و المتمثل في Ac.p-coumarique إلى Ac.p-coumaroyl CoA كما في الشكل (3) الذي يكون جاهزا للاتحاد مع Malonyl-CoA في مرحلة قادمة.

الشكل-3-: تحول Ac.p-coumarique إلى Ac.p-coumaroyl CoA

2-3-المرحلة الثانية:

- **طريق الخلات:**

تتشكل الحلقة A من تكاثف ثلاث وحدات من Malonyl-CoA الناتجة من تثبيت مجموعة كربوكسيل مع أستيل مرافق إنزيم Acetyl-CoA كما في الشكل (4) التالي:

الشكل-4-: تشكل Malonyl-CoA

3-3-المرحلة الثالثة:

- **طريق الشالكون :**

يعتبر الشالكون النواة الرئيسية التي تنحدر منها مختلف هياكل الفلافونيدات [7] و الذي يتكون من تكاثف ثلاث وحدات من Malonyl-CoA مع p-coumaroyl-CoA (المخطط -2-).

أما الإنزيمات المشاركة في الاصطناع فهي موضحة في الجدول (1).

المخطط-2-: الاصطناع الحيوي لمختلف الفلافونيدات انطلاقا من الشالكون[7]

جدول -1-: قائمة الإنزيمات المستخدمة في الاصطناع الحيوي للفلافونيدات

الرقم	الإنزيم
1	Aldolase, 3-désoxy-O-arabinoheptulosonate-7 phosphate synthase ou DHAP synthase
2	Déshydroquinate synthase
3	Déshydroquinate déshydratase
4	Shikimate déshydrogénase
5	Complexe shikimate kinase
6	Chorismate mutase
7	Préphénate déshydrogénase
8	Aminotransférases
9	Tyrosine ammonia-lyase
10	P-coumarate CoA-ligase
11	Chalcone synthase
12	Chalcone isomérase
13	2-hydroxyisoflavanone synthase
14	Flavone synthase
15	(2S)-Flavanone3-hydroxylase
16	Flavonol synthase
17	Dihydroflavonol 4-réductase
18	Falavan-3,4-cis-diol 4-réductase
19	Anthocyanidin/flavonol 3-O glucosyltransférase

4-<u>استبدال الهيكل الفلافونيدي:</u>

إن التنوع في صيغ الفلافونيدات يعود أساساً إلى عمليات الاستبدال أو التثبيت التي تتم من خلال أنماط من التفاعلات التسلسلية في وجود إنزيمات خاصة بكل نمط، كتفاعلات التماكب و الأكسدة، تثبيت المثيل، تكوين السكر... الخ.

1-4-تثبيت مجموعات الهيدروكسيل:

يعود تثبيت مجموعات هيدروكسيل الحلقة A إلى نمط تكوين الهيكل الفلافونيدي، فتكون ثنائية الاستبدال في الموضعين 5 و 7 بنسبة 90 % إذ تعد كمجموعات هيدروكسيلية أصلية. ويعود وجود ثلاث هيدروكسيلات أو هيدروكسيل واحد على الحلقة A في بعض الفلافونيدات إلى كون هذه الأخيرة تتبع اصطناعا حيويا مغايرا للأول. أما بالنسبة لهيدروكسيلات الحلقة B، فيعتبر هيدروكسيل الموضع '4 هو الوحيد الذي يتم تثبيته قبل تكوين الفلافونيد، في حين تكون المواقع '2، '6 نادرة الاستبدال [8].

2-4-تثبيت مجموعات المثيل:

يتم تثبيت المثيل بعد تثبيت الهيدروكسيل و يتطلب وجود إنزيم O-méthyl-transférase، و مانح للمثيل (SAM) فهذا التطور يتم قبل تكوين الشالكون. و قد تتم هذه العملية بعد تكوين الفلافونيد في وجود مانح للمثيل، كما هو الحال في تثبيت مثيل الموضع ميتا ('3) على الحلقة B في مركب Lutéoline [9] حسب الشكل (5) التالي:

OH OH RO O OH O SAM SAH OMe OH RO O OH O

R=H Luteolin
R=Glu 7-Glucosyl luteolin

R=H Chrysoeriol
R=Glu 7-Glucosyl chrysoeriol

SAM = S-adenosyl methionin
SAH = S-adenosyl homocystéin

الشكل-5-: التحويل الإنزيمي لمركب Luteolin إلى Chrysoeriol

3-4-تثبيت جزيئات السكر:

إن عملية تثبيت السكريات بأنواعها البسيطة ، الثنائية و الثلاثية تزيد إلى حد بعيد من تنوع البنى الفلافونيدية.

من أشهر السكريات نجد : الهكسوزات Hexoses (D-glucose ،D-galactose أو D-allose) والبنتوزات Pentoses (D-apioses ،L-arabinose ،L-rhamnose ،D-xylose) و التي ترتبط بالهيدروكسيلات الفينولية للأجليكون مشكلة رابطة من نوع (O-hétérosidique). وأكثر المواقع استبدالا الموقع 7 بالنسبة للفلافونات؛ إذ يعرف أكثر من 700 إتيروزيدا، والموقع 3 بالنسبة للفلافونولات و تعرف بأكثر من 1400 إتيروزيدا [1]. و تتم عملية تثبيت السكر في وجود أنظمة إنزيمية خاصة (Glycosyl transférase) و وجود مانح للسكر مثل UDP-Glu (glucose Uridine diphosphate) حسب الشكل (6).

الشكل-6-: تثبيت الجلوكوز في الموضع C-7 في وجود إنزيم و مانح للجلوكوز

- **حالة خاصة C-hétérosides:**

إن مركبات C-glycosyl flavonoides ليست بالمركبات النادرة، حيث تتشكل الرابطة في هذه الحالة بين ذرة الكربون الأنوميري C_1 لجزيء السكر (غالبا ما يكون Glucose و قد

يكون Galactose أو أحد البنتوزات) و الكربون C_6 و/أو C_8 للأجليكون الذي غالبا ما يكون فلافونا حيث تنشأ بذلك رابطة من نوع كربون ـ كربون بعد تكوين الشالكون مباشرة.

كما تجدر الإشارة إلى أن الحلقة البيرانية لمشتقات من نوع 5-hydroxy-C-glycosyl flavone تفتح بسهولة في الوسط الحمضي، و هذا ما يفسر وجود تماكب من الشكل (6↔8، 8↔6) و الذي يعرف بتماكب Wessely-Moser [1، 10]، و من أمثلتها ما هو مبين في الشكل (7).

R_1=H , R_2=Gluc : Isoorientin
R_1= Gluc , R_2= H :Orientin

R_1=H , R_2=Gluc : Isovetexin
R_1= Gluc , R2= H :Vitexin

الشكل-7-: بعض الأمثلة الشائعة عن C-glycosyl flavone

5-أقسام الفلافونيدات:

تصنف الفلافونيدات إلى عدة أقسام، حسب درجة تأكسد الحلقة البيرانية التي يمكن أن تفتح أو تغلق لتعطي حلقة فيران [11].

1-5-الفلافون و الفلافونول:

تمثل هذه المركبات الجزء الأكبر من الفلافونيدات المعروفة، بالنسبة للحلقة A أكثر من 90% تكون مستبدلة بمجموعات هيدروكسيل؛ في الموضعين C-5 و C-7، و تكون هذه

الهيدروكسيلات حرة أو مستبدلة بمجموعة مثيل أو مرتبطة بسكريات، و هناك استبدالات أخرى تكون بنسب متفاوتة:

هيدروكسيل حر في الموضع C-8، استبدال بمجموعة مثيل في المواضع C-6 و/أو C-8، استبدال كل من C-6 و C-8 بسكر حيث تكون الرابطة من نوع كربون_كربون.

أما الحلقة B فتكون مستبدلة بنسبة 80% في الموضع 'C-4، أو في الموضعين 'C-3 و 'C-4، و تكون ثلاثية الاستبدال في المواضع 'C-3، 'C-4، 'C-5 لكن بنسب قليلة؛ و هذه المستبدلات يمكن أن تكون مجموعات هيدروكسيل أو ميثوكسيل. أما المواضع الأخرى ('C-2 و 'C-6) فنادرا ما تكون مستبدلة. يتميز الفلافونول عن الفلافون بوجود مجموعة هيدروكسيل في الموضع C-3.

5-2-**الفلافانون و الثنائي هيدروفلافونول:**

تتميز الفلافونات بغياب الرابطة الثنائية بين C-2 و C-3 إلى جانب وجود مركز كيرالي في الفلافونيدات الطبيعية؛ حيث يكون تشكيل الكربون C-2 من نوع 2S.

أما بالنسبة لثنائي هيدروفلافونول فتوجد أربع متماكبات محتملة ؛ فمعظم المركبات المعروفة اليوم تكون ذات تشكيل 2R، 3S؛ أي الفنيل و الهيدروكسيل بتشكيل مفروق (*trans*) .

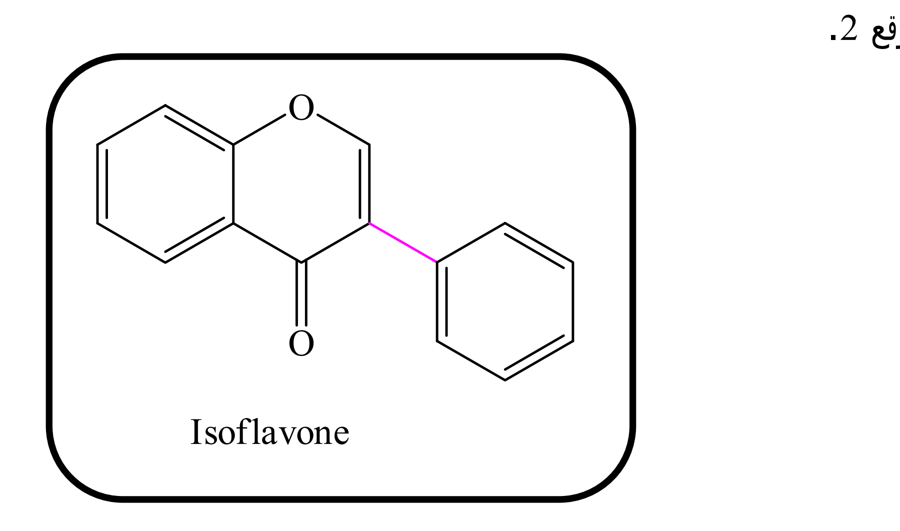
5-3-**الأنتوسيانين:**

هي عبارة عن صبغات تكون حمراء في الوسط الحمضي، و زرقاء في الوسط القاعدي، حيث تتواجد بكثرة في الأزهار و الفواكه. تختلف عن باقي الأقسام بكون الحلقة المركزية C_3 على هيئة أيون البيريليوم (ion pyrylium)، إذ يكون الأكسجين عبارة عن أيون الأكسونيوم (oxonium ionique)، تتواجد هذه المركبات في الطبيعة بالصورة الإيتيروزيدية.

4-5-الإيزوفلافون و النيوفلافون:

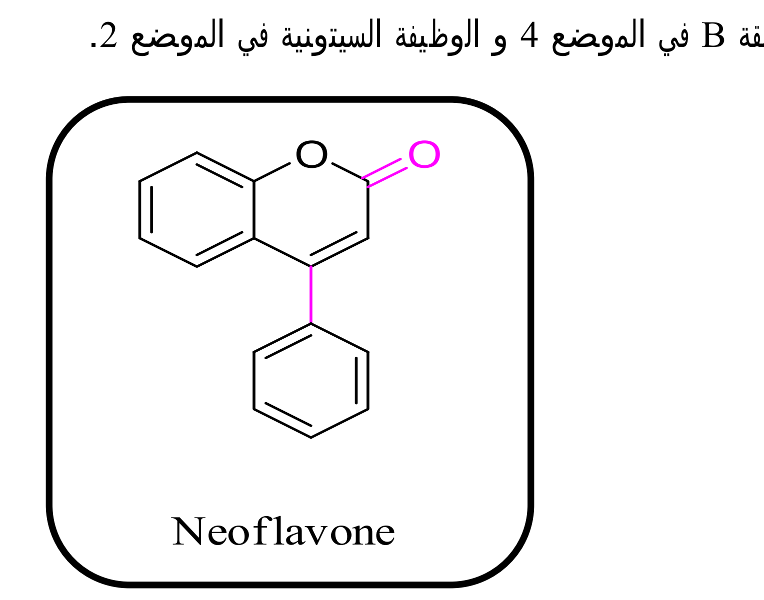
الإيزوفلافونيدات من المركبات قليلة الانتشار، رغم أنها فعالة جدا، و هي تتواجد في المملكة النباتية و تكون بصورة خاصة في العائلة البقولية légumineuses [13,12].

أما صيغتها فتختلف عن بقية الفلافونيدات إذ ترتبط الحلقة B بالحلقة A في الموضع 3 بدلا عن الموقع 2.



Isoflavone

أما النيوفلافون فيتميز بتبادل بين موضعي الحلقة B والوظيفة السيتونية في هيكل الفلافون [14]؛ حيث تكون الحلقة B في الموضع 4 و الوظيفة السيتونية في الموضع 2.



Neoflavone

يعتبر النيوفلافون من المركبات النادرة، و ذلك لقلة تواجدها في الطبيعة، على عكس الفلافون

و الفلافونول [15].

5-5-الفلافونيدات الثنائية:

يمكن للفلافونيدات أن تكون مرتبطة عن طريق ذرات الكربون الأكثر فعالية C-6أوC-8، حيث أن الفلافونيدات الثنائية هي عبارة عن ارتباط وحدتي فلافون وفلافانون.

Biflavonoide

6-5-الشالكون و الأورون:

يعتبر الشالكون نوع من أنواع الفلافونيدات إذ يتميز بكون الحلقة البيرانية C_3 مفتوحة، أي هي عبارة عن حلقتين عطريتين مرتبطتين بسلسلة من ثلاث كربونات؛ تحمل وظيفة كيتونية غير مشبعة (α-β insaturé). و تكون الحلقة B قليلة الاستبدال، أما الحلقة A فهي مستبدلة كبقية الفلافونيدات الأخرى.

أما الأورون فتكون صيغته من الشكل 2-benzylidiéne coumarone.

بالنسبة لهذين النوعين الترقيم يختلف عن باقي الأقسام كما يبينه الشكل (8).

Flavane Aurone Chalcone

-8-: الترقيم المتبع لمختلف أقسام الفلافونيدات

و الجدول (2) يبين أمثلة عن مختلف أقسام الفلافونيدات مع صيغتها المفصلة.

الجدول-2-: بعض أقسام الفلافونيدات المعروفة

أقسام الفلافونيدات			المركبات الرئيسية	
المشتقات	البنيات	اسم العائلة	موضع الهيدروكسيل	اسم المركب
Phenyl-2 chromones		R=H Flavone	5, 7,4' 5, 7,3',4'	Apigenine Luteoline
		R=OH Flavonol	5, 7,4' 5, 7,3',4'	Kaempferol Quercetine
		R=H Flavanone (dihydroflavone)	5, 7,4' 7,3',4'	Naringenine Butine
		R=OH Flavanonol	5, 7,3',4',5' 5, 7,3',4'	Fustine Taxifoline
Phenyl-2 chromanes		R=H Catechine (Flavanol-3)	5, 7,3',4' 5, 7,3',4',5'	Gallocatechine Catéchine
		R=OH Leucoanthocyanidine (flavandiol-3,4)	5, 7,3',4' 5, 7,3',4',5'	Leucocyanidine Leucodelphinidine
Flavyliums		R=H Flavylium (anthocyane)	5, 7,4' 5, 7,3',4'	Apigenidine Lueolidine
		R=OH Anthocyanidine	5, 7,3',4' 5, 7,3',4',5'	Cyanidine Delphinidine
Phenyl-3 chromones		Isoflavone	7,4' 5, 7,3',4'	Daidzein Orobol

6-توزيع الفلافونيدات:

تعتبر الفلافونيدات من المركبات الطبيعية الأكثر انتشارا في المملكة النباتية. إذ تتواجد بشكل واسع في الأوراق، البذور، الأغصان، و أزهار النباتات [16]، كما تتوافر بأوراق الخضار (كرنب، سبانخ...الخ)، و كذا في الغشاء الخارجي للفواكه (téguments externes des fruits) [17]. و أغلب الفلافونيدات المتواجدة في الأغذية هي التي يكون الشق السكري بها في الموضع 3 (3-O-glycosides) و كذا الفلافونيدات المتعددة (polymères)، كما يمكن أن تكون بالشكل الحر (aglycones) [11]، و الجدول (3) يبين توزيع بعض الفلافونيدات في الأغذية.

الجدول-3-: بعض المصادر الغذائية للفلافونيدات

Flavonoides	Aliments
Flavanones	
narigénine	fruits du genre citrus
Flavones	
Chrysine	peau de fruits
Apigénine	persil, thym, romarin, céleri
lutéoline	persil, céleri
Flavonols	
kaempferol	radis, brocoli, thé noir
quercétine	oignon, pomme, olive, vin rouge, tomate
myricétine	canneberge, vin rouge
Flavan-3-ol	
épicatéchine	thé vert, thé noir
catéchine	thé vert, thé noir
épigallocatéchine	vin rouge
Anthocyanidols	
cyanidols	cassis, myrtilles
malvidol	raisins, fraises, cassis
apigénidol	framboises, fraises

و قد بينت أبحاث عدة، غنى بعض الخضار و الفواكه بالفلافونولات، و الفلافونات، و الفلافانونات [18-21].

و أثبتت الدراسات أن احتواء الأغذية على الفلافونول و الفلافون يتأثر بعدة عوامل منها: الفصل(موسم النمو)، المناخ، و درجة النضج [22]؛ والجدول (4) يبين نسبة الفلافونيدات في بعض الخضار. أما معدل استهلاك الإنسان للفلافونيدات فيتراوح بين 25ملغ إلى 1غ في اليوم [23] .

الجدول-4-: كمية الفلافونيدات في بعض الأغذية [17]

العينة النباتية	مجموع الفلافونيدات (الوزن في الحالة الطازجة بـ ملغ/كغ)
الخضر	
الكرنب الأبيض	17.7
البصل الأحمر	124.1
الفلفل	20.1
السبانخ	338.6
أوراق البقدونس	80.8
أوراق الكرفس	402.8
جذور الكرفس	25.9
الفواكه	
البطيخ	18.4
الفراولة	52.8
العنب	1003
الجوز	5465
الكيوي	22.3
الموز	22.8
التفاح	65.3
الإجاص	24.7
البرقوق	23.3
المشمش	11.5

7-خواص الفلافونيدات:

إن الفلافونيدات مركبات هيدروكسيلية ما جعلها تتصف بخواص و صفات الفينولات فهي مركبات ذوابة في القواعد القوية مثل هيدروكسيد الصوديوم، و تتميز الفلافونيدات التي تحمل عددا

أكبر من مجموعات الهيدروكسيل الحرة أو التي تحوي مجموعة سكر بالصفة القطبية؛ و عليه فهي ذوابة في المذيبات القطبية مثل الميثانول و الإيثانول و الماء. حيث أن ارتباطها بمجموعة سكر تجعلها أكثر ذوبانا في الماء. أما الفلافونيدات الأقل قطبية مثل الإيزوفلافونات و كذلك الفلافانونات التي تحمل عددا كبيرا من مجموعات الميثوكسيل فإنها تذوب في الكلوروفورم أو الإيثير [15].

8-كيمياء الفلافونيدات:

من التجارب التي تجرى في المختبر بغية الاستفادة من تعيين بناء الفلافونيدات مثيلة مجموعات الهيدروكسيل في الفلافونات التي تحمل مجموعات هيدروكسيل حرة لتنشأ الايثيرات المثيلية ، و ذلك باستخدام عوامل مثيلة مختلفة؛ مثل ديازوميثان، و يوديد المثيل و ثنائي مثيل سلفات. و من أحسن كواشف المثيلة هذه ديازوميثان إلا أن استخدام هذا الكاشف أمر إختياري، إذ له القدرة على مثيلة مجموعة الهيدروكسيل في أي موضع على ذرات كربون نواة فلافون ماعدا مجموعة الهيدروكسيل التي توجد على الموضع رقم 5؛ و يعود ذلك إلى الترابط الهيدروجيني القوي بين مجموعة الهيدروكسيل هذه و مجموعة الكربونيل في نواة فلافون [2] (الشكل 9).

الشكل-9-: مثيلة مجموعات الهيدروكسيل في نواة الفلافون

أما المثيلة التامة لمركب فلافونيدي يحمل مجموعات هيدروكسيل حرة فإنها تتم بواسطة ثنائي مثيل سلفات في الوسط القاعدي بما في ذلك 5-OH في حالة وجودها. و بالمثل فان الأسيلة التامة لجميع مجموعات الهيدروكسيل الحرة يمكن أن تنجز بسهولة في مركبات الفلافونيدات باستخدام حمض الخليك اللامائي (Anhydride acétique) في البيريدين. هذا و يمكن انتزاع مجموعات المثيل من مركب فلافونيدي متعدد مجموعات الميثوكسيل و ذلك بتسخينه مع كلوريد الألومينيوم ($AlCl_3$) عند درجات حرارة عالية نسبيا [2].

على سبيل المثال يمكن تحويل الفلافون (1) إلى الفلافونول (2) و ذلك بتسخين المركب الأول إلى 100°م في وجود كلوريد الألومينيوم و نيتروبنزين كما هو مبين في الشكل(10).

$$\xrightarrow[PhNO_2]{AlCl_3/100°C}$$

OMe, MeO, OMe, OMe, OMe, O, O (1) — OH, HO, OH, OH, OH, O, O (2)

الشكل-10-:انتزاع مجموعات المثيل من مركب فلافونيدي متعدد مجموعات الميثوكسيل

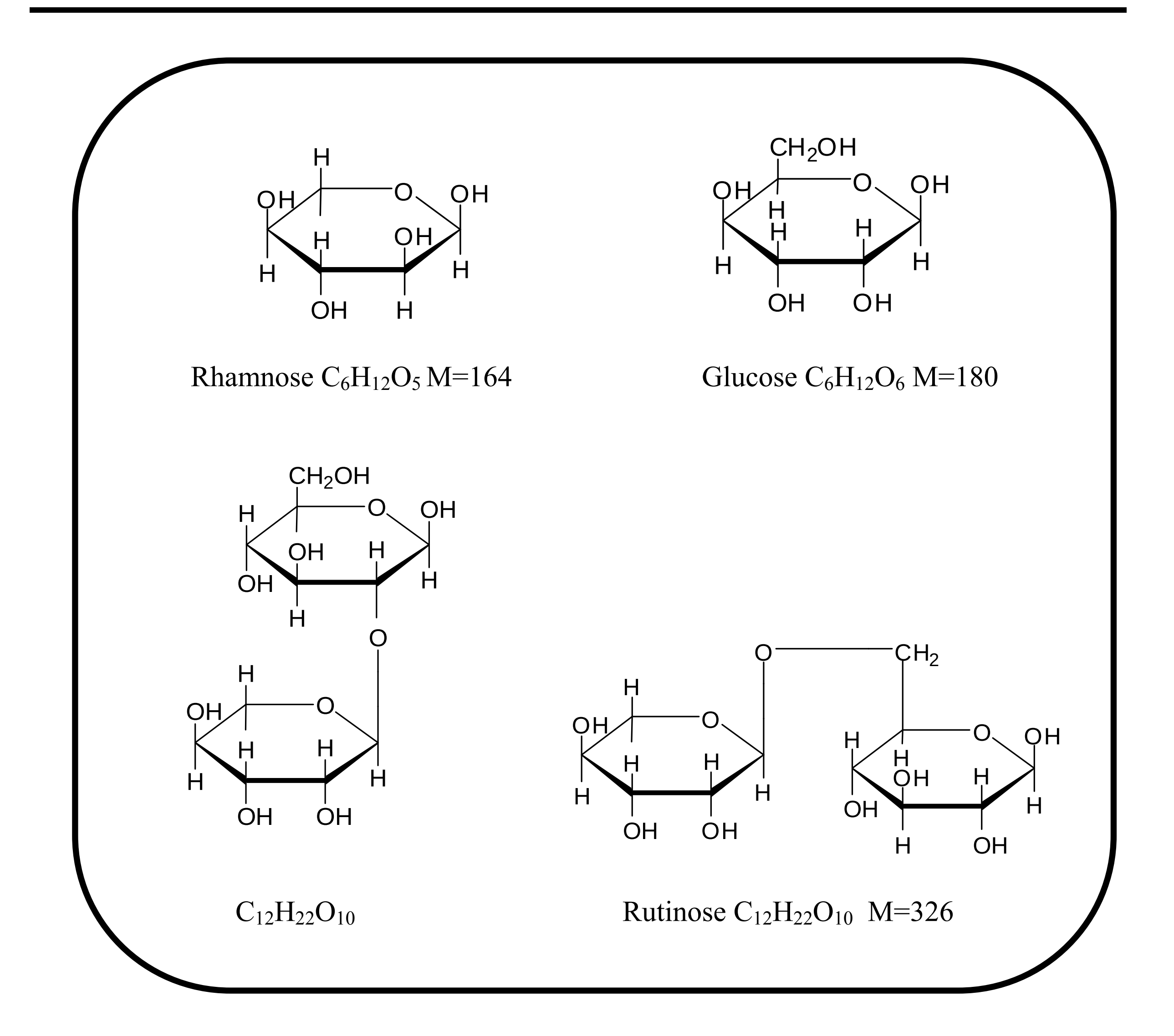
أما إذا استخدم كلوريد الألومينيوم في وجود مذيب له درجة غليان منخفضة مثل الإيثير فان عملية انتزاع مجموعة المثيل تقتصر على مجموعة ميثوكسيل في الموضع 5 كما وجد في كثير من الحالات. و عليه فهذه الطريقة انتقائية لانتزاع مجموعة ميثوكسيل في الموضع 5 دون أن تتأثر مثيلاتها في بقية المواضع الموجودة في المركب الفلافونيدي [2].

فيما يخص الجليكوزيدات فتتحلل تلك التي يكون الشق السكري فيها مرتبط إلى ذرة أكسجين (أي رابطة من نوع O-Glycoside) تحللا مائيا تحت ظروف متوسطة الحمضية حيث يتم الحصول على المركب الفلافونيدي الحر، و غالبا ما يستخدم حمض الهيدروكلوريك 2 عياري.

أما الجليكوزيدات التي يرتبط فيها السكر بنواة الفلافونيد برابطة من نوع C-C (C-Glycoside) فتقاوم التحلل تحت الظروف السابقة. و تعتمد سرعة انفصال السكر المرتبط عن طريق ذرة الأكسجين على قوة الحمض المستخدم و على نوع الشق السكري الموجود و كذا على موضع ارتباطه على النواة الفلافونيدية؛ فمثلا الجليكوزيدات التي يدخل في بنائها سكر الرامنوز تتحلل أسرع من مثيلاتها من السكريات الأخرى. كما يسهل تحلل السكر إذا كان مرتبطا بالموضع 3 عما إذا كان مرتبطا بالموضع 7، و يمكن أن تتحلل الجليكوزيدات التي تتألف من سكرين أو أكثر تحللا جزئيا وذلك باستخدام الحمض و لمدة وجيزة، إذ أن استعمال حمض الهيدروكلوريك 2 عياري لمدة ساعة كفيل بتحلل أنواع الجليكوزيدات. هذا و تتحلل الجليكوزيدات بواسطة إنزيمات معينة مع العلم أن بعضها له القدرة على تحليل روابط α-glycosides، و بعضها الآخر باستطاعته التأثير على روابط β–glycosides [15]. و الجدول (5) يبين مختلف السكريات الشائعة الارتباط بالهيكل الفلافونيدي.

الجدول -5-: مختلف السكريات الشائعة الارتباط بالهيكل الفلافونيدي

الاسم الشائع	بنية السكر
Sambubioside	*O-β-D*-xylosyl(1 → 2)glucose
Neohesperidoside	*O-α-L*-rhamnosyl(1 → 2)glucose
Rutinoside	*O-α-L*-rhamnosyl(1 → 6)glucose
Sophoroside	*O-α-D*-rhamnosyl(1 → 2)glucose
Gentioboside	*O-α-D*-rhamnosyl(1 → 6)glucose



9-اصطناع الفلافونيدات:

في المراجع البيبليوغرافية توجد أربع طرق لاصطناع النواة الفلافونيدية (C_6-C_3-C_6)؛ من بينها طريقتين فقط متبعتين في المخابر[24].

1- تكثيف الوحدة C_6-C_2 (2-hydroxy acétophénone) مع الوحدة C_6-C_1 (aldéhyde aromatique) .

2- أسيلة الوحدة C_6 (phénol) مع الوحدة C_6-C_3 مشتقات حمض السيناميك أو أحد مثيلاته (dérivés de l’acide cinnamique ou leur équivalent) (الشكل 11).

الشكل-11-: تكثيف الوحدة C_6-C_2 مع C_6-C_1 و تكثيف الوحدة C_6 مع C_3-C_6

و من جهة أخرى، العديد من الفلافونيدات تحضر من خلال تعديل البنية الأساسية المتكونة من C_{15} سواء بالأكسدة، التماكب (isomérisation)، إماهة كلية أو جزئية (hydrolyse)، تثبيت مجموعة ألكيل أو سكر برابطة من نوع (C-(alkyl ou sucre أو O-(alkyl ou sucre).

●اصطناع الشالكون، الفلافانون و الفلافون:

أثبتت الدراسات أن عملية التكثيف التي تتم بين المركبات من نوع orthohydroxyacétophénones و مشتقات بنزالدهيد dérivés de benzaldéhydes في وجود هيدروكسيد الصوديوم أو البوتاسيوم تنتج الشالكون (الوسيط الأساسي لاصطناع الفلافونيدات) هذا الأخير يتحلق بالطريقة A أو B ليعطي فلافونا و فلافانونا (الشكل 12) . هذا التفاعل لا يتعلق فقط بشروط الوسط و الحرارة؛ إنما بطبيعة و مواضع استبدال المركبات المشاركة في عملية التكثيف[25]. كما يمكننا الحصول على الفلافون عن طريق تفاعل نزع الهيدروجين (déhydrogénation) للفلافانون و هذا الأخير يتطلب محفزات مختلفة مثل البالاديوم أو أكسيد الصوديوم (يعتبر جد فعال).

أما عن عملية تحويل الفلافانون إلى فلافون فتستعمل عند تعيين بنية الفلافانون عن طريق أكسدته إذ أن عددا كبيرا من الفلافونات الطبيعية تعتبر كمرجع.

OH
methode
A ou B
O
Chalcone
O
R
+
O
Flavone
O
R
O
Flavanone

Méthode A : $PdCl_2$, MeOH, Reflux 4 jours.
Méthode B : $PdCl_2$ (0.1% mol), 1,4-benzoquinone, MeOH, Reflux 4 jours

الشكل -12-: طريقة تحضير الفلافونيدات انطلاقا من نواة الشالكون

10-أهمية الفلافونيدات بالنسبة للنباتات:

* الفلافونيدات هي العناصر المسؤولة عن إعطاء اللون للنبتة و بصفة خاصة للأزهار مما يمنحها الصفة الجاذبة للحشرات و الطيور التي تنقل حبوب الطلع و بذلك تمنح دورة جديدة لحياة هذه النباتات، كما تلعب دور حماية لها إذ تعطي طعما مميزا للنبتة مما يبعد الحشرات الضارة عنها.

* لها دور في مراقبة نمو و تطور النبات و هذا بتفاعلها بطريقة معقدة مع مختلف هرمونات النمو النباتية كما تتكامل فيما بينها لتساهم فيما يسمى بـ:Phytoalexines و هو إنتاج النبتة لأيض يعالج الإصابات التي تسببها البكتيريا و الفطريات[17].

* تحمي نسيج النبات لكونها تمتص الأشعة فوق البنفسجية (250-270 ن.م) و عليه فهي تحمي المواد الأساسية (البروتينات و الأحماض النووية) من الآثار السامة لهذه الإشعاعات [26]، كما تساعد على الإنقاص من ظاهرة النتح في المناطق الجافة [27].

11-الفعالية البيولوجية للفلافونيدات:

في الصيدلة تدخل العديد من المركبات الطبيعية في تركيب الأدوية، و تبقى الأبحاث قائمة في علم النبات للحصول على عناصر ذات فعالية، أو مواد أولية لعمليات الاصطناع. و من أهم هذه المركبات الفلافونيدات و التي عرفت من قبل كمنشطات وريدية (toniques veineux)، و كواقيات للشعيرات الدموية (فعل فيتامينP مأخوذ من كلمة perméabilité) ؛ أي معالجة نفاذيتها لتفادي النزيف [28]. أما الآن فقد أثبتت الأبحاث أن لهذه المركبات فعاليات بيولوجية عديدة .

* فهي تثبط العديد من الإنزيمات [4] من بينها:

- Inhibition de l’histidine décarboxylase.
- Inhibition de l’élastase.
- Inhibition de la hyluronicase .
- Inhibition non spécifique de la catéchol-O-méthyltransférase…

و في حالات نادرة يمكن أن تحفز الفلافونيدات فعالية بعض الإنزيمات مثل: ATP ases، Kinase transférases [29]. و بصفة عامة فان الفلافونيدات هي عبارة عن قانصات للجذور الحرة (piégeurs des radicaux libres) و التي تتشكل في ظروف مختلفة عند الالتهابات مثلا [4]. بالإضافة إلى فعاليات أخرى: كمضادة للقرحة [28]، للحساسية [30]، مضادة لتشكل الأورام (antitumorale) [31]، للأكسدة [32]، للالتهابات [33، 34]، للفيروسات (antivirale) [35]، ومضادة للتشنجات (antispasmodiques) [36]، و تستعمل كمشخصات وراثية (marqueurs génétiques) [37]، و للفلافونيدات فعالية ضد الأمراض السرطانية [38، 39]...الخ.

لقد أثبت الباحثون أنه كلما زاد عدد مجموعات الهيدروكسيل (OH) على الحلقة A أوB زادت فعالية الفلافونيدات ضد السرطان، و الرابطة الثنائية بين C_2-C_3 تعتبر هامة لتنشيط هذه الفعالية

[40]. إذ توجد علاقة بين بنية الفلافونيد و الفائدة الفارماكولوجية و الجدول (6) يلخص لنا بعض الأمثلة.

الجدول-6-: الفوائد العلاجية لبعض الفلافونيدات

الفلافونيد	الاستعمال العلاجي	المرجع
Thymonin Criseliol	- diurétique مدر للبول - digestive	42 43
Nepitrine	- anti-inflammatoire مضادة للالتهاب - anti-arthrique	44
8-glucosyle Hypolaetine	- anti-inflammatoire مضادة للالتهاب - anti-ulcère لمضادة للقرحة	45
Fisetine	- anti-inflammatoire مضادة للالتهاب	46
Nobilitine Tangeritine	- anti-allergiqueمضادة للحساسية	47 48
8-methoxy cirsilineol	- anti-spasmodiqueمضادة للتشنج - stomachiqueهاضم	42 43
Cirsimaritine Baicaleine	- anti-purique - antiseptique (مطهر) مانع للالتهاب	49 50
Eupatorine, eupatiline, jaceossidine Hispiduline et 6-methoxy apigenine	- traitement des tumeursمعالجة الأورام	51 52
Quercétine	- traitement du para influenza - anti-malaria (حمى المستنقعات) مضاد للملاريا - anticancéreuse مقاومة للسرطان	54 55 62 63
3-glucosyl kaempferol 3-rutinosyl kaempferol	- crises hémorroïdairesعلاج البواسير - troubles cardio-vasculaires اضطرابات شرايين القلب	56 57
3-methyl quercétine	- anti-viral مضاد للفيروسات	58
Morine	- antipolivirus	59
3-methyl Kaempferol		60
3-rhamnosyl kaempferol 3-glucosyl kaempferol	- activité analgésique مسكن للآلام	61

11-الدراسة الكيميائية للفلافونيدات:

1-الاستخلاص:

قبل الشروع في عملية الاستخلاص نقوم بتحضير المادة النباتية، و هي أول الخطوات، حيث يتم تجفيف الجزء المراد دراسته و يكون عموما من الجزء الهوائي للنبتة و ذلك لارتباط الاصطناع الحيوي للفلافونيدات بالعامل الضوئي، كما قد تدرس الجذور، الثمار أو البذور. و تتم عملية التجفيف في الظل و بعيدا عن الرطوبة و يلي ذلك التنقية و الطحن.

ثم نمر لعملية الاستخلاص و في هذا النوع من المركبات الفينولية يستحب استعمال محاليل كحولية، كالميثانول و الإيثانول مع إضافة الماء بنسب 20 إلى 50% [20، 23، 62] بعد التركيز و التخلص من الكحول المستعمل، يعمد إلى استخلاص انتقائي من نوع سائل/سائـل، باستعمـال مجموعة من المذيبات كإيثر البترول لنـزع الكلوروفيـل و الليبيـدات، و ثنائـي إثيل إيثر (diethyl ether) لاستخلاص الأجليكونات الحرة [63] و أكثر المذيبات استعمالا أسيتات الإثيل (AcOEt) لاستخلاص الأجليكونات عديدات الهيدروكسيل و الجليكوزيدات أحادية السكر كما يستعمل البيوتانول العادي (n-BuOH) في استخلاص الجليكوزيدات عديدة السكر.

2-الفصل و التنقية:

يعتمد على التقنيات الكروماتوغرافية بمختلف أنواعها في فصل و تنقية المركبات الفلافونيدية، فتعتبر كروماتوغرافيا العمود الطريقة الأنجع في فصل الكميات الكبيرة والأكثر تعقيدا، إذ تعتمد هذه الطريقة على الأطوار الثابتة: السليكاجل (Silicagel) و السليلوز (Cellulose) ومتعدد الأميد SC_6 (Polyamide, eg. Machry Nagel) الذي يعتبر الأفضل لكونه مناسبا لفصل جميع المركبات الفلافونيدية خاصة الجليكوزيدية منها و ذلك لاحتوائه على الوظيفة الأميدية

السامحة بتشكيل روابط هيدروجينية قوية مع المجاميع الهيدروكسيلية (OH) [64]، و تعتبر كروماتوغرافيا الورق التحضيرية (CPP) الطريقة الأفضل في فصل وتنقية الكسور المحصل عليها من العمود الكروماتوغرافي، و من أشهر المذيبات المستخدمة في هذه التقنية نجد:

- حمض الخل بتراكيز مختلفة من 5 إلى 70 ٪ (من 6 إلى 8 ساعات).
- 5 / 1 / 4 (الماء / حمض الخل / البوتانول العادي) B.A.W (16-18سا).

بالإضافة إلى هذه الطرق يستعان أيضا بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة التحضيرية (CCM) ذات الدعامة التالية:

- متعدد الأميد (DC6) ، و من أشهر الجمل المستخدمة في هذه التقنية نجد:

- 1 / 3 / 3 / 13 (أستيل استون / مثيل إيثيل سيتون / ميثانول / ماء).
- 3 / 3 / 4 (مثيل إيثيل سيتون / ميثانول / طولوين).
- 1 / 1 / 18 (ماء / حمض الخل / ميثانول).
- 7 / 7 / 28 / 60 (مثيل إيثيل سيتون / ميثانول / إيثير البترول / طولوين).

- السيليكاجال و من أمثلة الجمل المستخدمة في هذه التقنية:

- 1 / 2 / 4 أو 1 / 3 / 5 (حمض الخل / خلات الإيثيل / طولوين).
- 1 / 1 / 8 أو 0.5 / 0.5 / 8 (حمض الخل / ميثانول / خلات الإيثيل).

- السيليلوز و من أشهر المذيبات المستخدمة في هذه التقنية نجد:

- حمض الخل بتراكيز مختلفة من 10 إلى 30 ٪.

تتم تنقية المركبات المفصولة بالاستعانة بعمود صغير من متعدد الأميد (DC6) باستعمال طوليان كمذيب و إغنائه بقليل من الميثانول، ثم عمود من Séphadex LH 20 باستخدام الميثانول كمذيب.

3-التعيين البنيوي للفلافونيدات:

3-1-ثابت الانحباس:

يمكن تحديد قيمة ثابت الانحباس R_f كما يلي :

$$R_f = \frac{\text{المسافة المقطوعة من طرف المركب من نقطة البداية}}{\text{المسافة المقطوعة من طرف المماص من نفس النقطة}}$$

R_f هو قيمة مميزة للمركب في شروط كروماتوغرافية معينة (درجة الحرارة، طبيعة الدعامة، و المماص). و تتأثر هذه القيمة بالمستبدلات و مواقعها على الجزيء. فمن خلال R_f يمكن التمييز بين الجليكوزيدات الأحادية، الثنائية، ومتعددة السكر [63] و بين الأجليكونات البسيطة، و متعددة الهيدروكسيل أو متعددة الميثوكسيل.

3-2-اللون الاستشعاعي:

يعتبر لون المركبات الفلافونيدية تحت الأشعة فوق البنفسجية عند 254-356 ن م بمثابة المؤشر الدال على المعطيات التي تساعد على تحديد صيغة بنيوية تقريبية للمركب الفلافونيدي، و الجدول (7) يلخص العلاقة بين لون المركب تحت الأشعة فوق البنفسجية و الصيغة المحتملة للفلافونيد.

الجدول-7-: العلاقة بين لون المركب و بنيته الكيميائية [24]

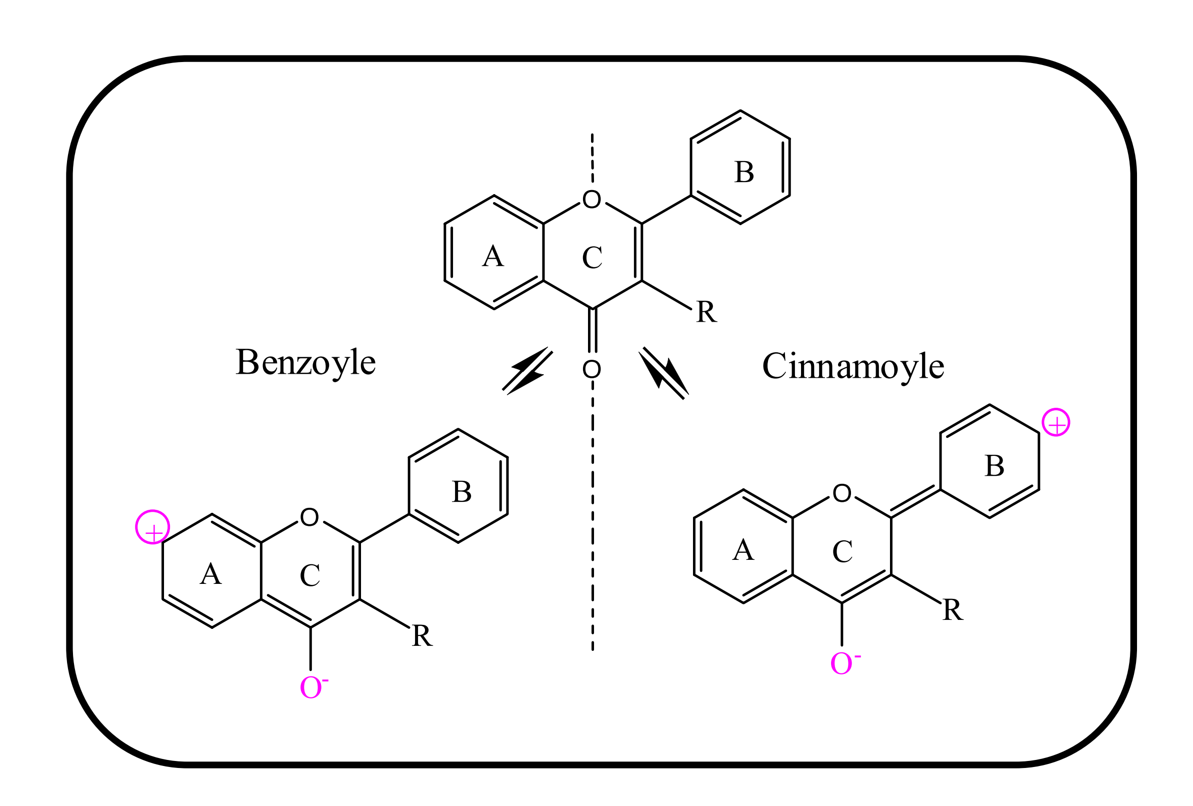
المركب لون تحت أشعة UV	البنى الكيميائية المختلفة
بنفسجي-أسود.	. فلافون. . 5،6،7 أو 5،7،8 ثلاثي هيدروكسيل فلافون. . فلافونول مستبدل في الموضع 3. . بعض الشالكونات.
بنفسجي-نيلي.	. فلافونول أو فلافانول يملك هيدروكسيل في 3. . فلافون أو فلافانون دون OH في5. . فلافونول مستبدل في 3 أو دون OH في 5.
أصفر أو أصفر باهت.	. فلافونول مع OH حر في3 (أو دون OH في 5).
برتقالي لامع.	.إيزوفلافون.
أصفر مخضر.	. أورون.
أخضر.	. بعض الشالكونات.
أزرق مخضر.	. فلافانون دون OH في 5.

3-3-مطيافية الاشعة فوق البنفسجية (UV):

تعتبر مطيافية الأشعة فوق البنفسجية من أهم الوسائل المستعملة للتعرف على البنى الكيميائية للفلافونيدات، نظرا للمعلومات الوافية التي تقدمها و لكونها لا تتطلب كمية كبيرة من المركب.

3-3-1-طيف الامتصاص في الوسط الميثانولي:

يعطي طيف الفلافونيدات الحاوية على مجموعة كربونيل في C_4 (فلافون ، فلافونول) ، عصابتين I و II [64] كما هو موضح في الشكل (13).



الشكل-13-: يوضح عصابتي امتصاص الفلافونيد

العصابة I: ذات قيمة امتصاص عظمى في حدود (300-400 nm)، و المميزة لامتصاص الصورة Cinnamoyle الناتج عن ترافق مجموعة الكربونيل C_4 مع الرابطة الثنائية و الحلقة B. إذ تسمح بتمييز الفلافونول عن الفلافون وتعطي معلومات عن التغيرات البنيوية للحلقتين B و C [65] .

العصابة II: ذات قيمة امتصاص عظمى في حدود (250-280 nm)، و هي ناتجة عن الشكل Benzoyle الناجم عن ترافق مجموعة الكربونيل مع الحلقة العطرية A. و هذا ما يمكننا من الكشف عن الهياكل الفلافونيدية المختلفة حسب الجدول (8) [65].

الجدول -8-: أهم الإنزياحات الملاحظة للعصابتين I و II في الميثانول

نوع المركب الفلافونيدي	الحزمة I	الحزمة II
فلافون	320 ـ 350	250 ـ 280
فلافونول	352 ـ 385	250 ـ 280
فلافانون	300 ـ 330	245 ـ 275
إيزوفلافون	320 Epaulement	245 ـ 275
أنثوسيانينات	460 ـ 470	270 ـ 280

يعتمد الطول الموجي للحزمتين على عدد و موقع مجموعات الهيدروكسيل البديلة، فمن الملاحظ أنه كلما زادت مجاميع الهيدروكسيل زاد الطول الموجي (انزياح باثوكرومي). و عند استبدال مجموعات الهيدروكسيل بمجموعات ميثوكسيل، أو وحدات سكر تنزاح حزمتا الامتصاص إلى طول موجي أقل (انزياح هيبسوكرومي) [65].

3-3-2-طيف الامتصاص في وجود الكواشف:

- في وجود **NaOH (NaOMe)**: إذ تعتبر قاعدة قوية تؤين كل هيدروكسيلات الفلافونيد فتحدث انزياح باثوكرومي للطيف يكون واضحا على الحزمة I .
- في وجود **NaOAc**: تعتبر قاعدة ضعيفة مقارنة بـ NaOH فهي تؤين فقط الهيدروكسيلات الأكثر حامضية C_7، C_3، C_4'، و يعتبر NaOAc كاشفا نوعيا لهيدروكسيل الموقع C_7.
- في وجود **$NaOAc+H_3BO_3$**: يستعمل هذا المحلول للكشف عن أورثو ثنائي الهيدروكسيل، إذ يشكل حمض البوريك في وجود خلات الصوديوم معقدات مع الهيدروكسيلات الفينولية في الموضع أورثو حسب الشكل (14).

الشكل-14-: يوضح المعقد المتكون بين الفلافونيد و محلول ($NaOAc+H_3BO_3$)

- في وجود $AlCl_3$، $AlCl_3+HCl$: يشكل كلوريد الألومنيوم معقدات ثابتة في الوسط الحمضي مع مجموعة الكربونيل، و هيدروكسيلات المواقع 3 أو 5، و معقدات غير ثابتة مع جملة أورثو ثنائي الهيدروكسيل مثل '3 ، '4 بالنسبة للحلقة B ، و ثنائي هيدروكسيل 6 ،7 أو 7، 8 بالنسبة للحلقة A كما هو موضح في الشكل (15).

معقد ثابت

الشكل-15-:المعقدات الثابتة وغير الثابتة بين الفلافونيد و $AlCl_3$ قبل وبعد إضافة HCl

و الجدول (9) يبين أهم الانزياحات الملاحظة بإضافة مجموعة من المتفاعلات على الحزمتين I وII [4، 63، 66].

الجدول (9) : يوضح أهم الانزياحات الملاحظة بإضافة مجموعة من المتفاعلات [66،64،4]

المفاعلات	الإزاحة الملاحظة بـ (nm)		التعليل
	الحزمة I	الحزمة II	
MeOH	304 ـ 350	250 ـ 280	فلافون
	352 ـ 385	250 ـ 280	فلافونول
	328 ـ 357	250 ـ 280	OR في الموضع 3
NaOMe (NaOH)	+45 إلى +65 1- عدم نقصان الشدة الضوئية/MeOH 2- نقصان الشدة الضوئية/MeOH		OH في '4 OR في ’4
	استمرار التناقص في الشدة الضوئية، طيف يتحلل مع الوقت		OH في 3، '4 أو Orthodi-OH على الحلقة A مثلاً 7، 6 أو 8، 7 أو Orthodi-OH على الحلقة B
	استمرار التناقص في شدة الامتصاص مع تفكك سريع للطيف		Tri OH 3، '3، '4 أو Tetra OH في 3، '3، '4، '5
	عصابة جديدة بين 320 ـ 335		OH في 7
NaOAc		+5 إلى +20	OH في 7 مع ملاحظة أن هذا الانزياح يتراجع في وجود مستبدلات 6 أو 8
		عدم وجود أي انزياح أو	OR في 7

		ظهور انزياح ضعيف	
		طيف يتفكك بمرور الزمن	Di OH في 7، 6 أو 8، 7 أو ’4، ’3 Tri OH في 7، 6، 5 أو 8، 7، 5 أو ’4 ،’3 ،3
NaOAc + H_3BO_3	+12 إلى +36		Orthodi OH على الحلقة B
MeOH/ NaOAc + H_3BO_3		+10 - 15	Orthodi OH على الحلقة A (6-7 أو 7-8) إيزوفلافون
MeOH/ $AlCl_3$ +HCl	+17 إلى +20		5-OH مع مجموعة أكسجينية في 6
	+35 إلى +55		OH في 5 فلافون و OCH_3 في 3 فلافونول
	+50 إلى +60		OH في 3 مع أو عدم وجود OH في 5
$AlCl_3$/ ($AlCl_3$+HCl)	-20 إلى –40 مع نتوء أو قمة من [350 ـ 360]		Orthodi OH على الحلقة B
	-20 إلى –25		إمكانية وجود Orthodi OH على الحلقة A أكثر من Orthodi OH على الحلقة B أو Tri OH على الحلقة B

(+) : باتوكروم؛ (-) : هبسوكروم ؛ / : بالنسبة

4-3-مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون RMN ^1H:

تستعمـل هذه التقنيـة في التحليل الكيفي للفلافونيدات لمعرفة درجة تأكسد الحلقـات C، B، A، و كذا عدد ومواقع المجموعات الميثوكسيلية و عدد و طبيعة السكريات الموجودة في المركب.

و لتحقيق هذه التقنية تستخدم الكثير من المذيبات أشهرها: $CDCl_3$ الذي يعطي نتائج جيدة مع الفلافونيدات غير القطبية، و DMSO-d_6 الذي يستخدم في حالة الفلافونيدات الجليكوزيدية خاصة

و كذا الأجليكونات [15، 67]، تظهر بروتونات الفلافونيدات في المجال (0-9ppm)، و توزع في مجموعات محددة، و فيما يلي جداول (الجداول:10، 11، 12) تبين الانزياح الكيميائي لمختلف بروتونات الحلقتين A و B [4، 68].

الجدول-10-: الانزياح الكيميائي لبروتونات الحلقة A

نوع الفلافونيد	H-5	H-6	H-8
5,7-OH	-	*d*(*J* =2,5 Hz) 6,2 –6,0 ppm	*d*(*J*=2,5 Hz) 6,3– 6,5 ppm
5-OH,7-O Glc	-	*d*(*J* =2,5 Hz) 6,1 –5,9 ppm	*d*(*J*=2,5 Hz) 6,1–6,4 ppm
5,6,7-OR (R=H, Glc)	-	-	6,3 ppm (S)
5,7,8-OR (R=Glc,H)	-	6,3 ppm (S)	-
7-OR (R=H, Glc)	*d*(*J*=9 Hz) 8,0 ppm	*d,d*(9 Hz, 2,5 Hz) 7,1 –6,7 ppm	*d*(*J*=2,5 Hz) 6,7–7 ppm

الجدول-11-: الانزياح الكيميائي لبروتونات الحلقة B أحادية الاستبدال

الفلافونويد	H-5' , H3' *d*(*J*= 8,5 Hz)	H-6' , H2' *d*(*J* = 8,5 Hz)
فلافون	7,1 - 6,5 ppm	7,9 - 7,7 ppm
فلافونول	7,1 - 6,5 ppm	8,1 - 7,9 ppm

الجدول-12-: الإزاحة الكيميائية لبروتونات الحلقة B ثنائية الاستبدال

نوع الفلافونيد	H2' *d*(*J*= 2,5 Hz)	H-6' *dd*(*J*= 8,5; 2,5 Hz)
Flavone - 3',4'- OH. - 3'- OMe, 4'- OH. - 3'-OH, 4'- OMe.	7,3 - 7,2 ppm	7,5 - 7,3 ppm
Flavonol - 3',4' OH. - 3'-OH, 4' OMe.	7,7 - 7,5 ppm	7,9 - 7,6 ppm

بروتونات الحلقة C: يتأثر بروتون C_3 في الفلافون بمستبدلات كلتا الحلقتين العطريتين ، و يعطي إشارة أحادية في المجال (6,2-6,4 ppm) تتداخل مع إشارة بروتوني الحلقة A (H-6, H-8) [68].

يعطي بروتون C_2 في الإيزوفلافون إشارة أحادية حادة في حدود 8-8,5 ppm [68].

بروتونات الميثوكسيل: تظهر بروتونات الميثوكسيل في المجال 3,8-4,5 ppm [68].

بروتونات السكريات: يمكن التعرف على نوع السكر من خلال بروتونه الأنوميري ، ذو انزياح كيميائي يعتمد أساسا على طبيعة الفلافونيد و موقع ونوع الرابطة بين السكر و الأجليكون، و الجدول (13) يعطي قيم الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري "H_1 لبعض الفلافونيدات أحادية السكر.

الجدول-13-: يبين قيم الانزياح الكيميائي لـ "H_1 لبعض الفلافونيدات أحادية السكر

الفلافونيد	δ H_1'' ppm
7-O-glucosyl flavonol	5,2 – 4,8
3-O-glucosyl flavonol	6,0 – 5,7

7-O-rhamnosyl flavonol	5,3 – 5,1
3-O-rhamnosyl flavonol	5,1 – 5,0

يمكن التعرف على نوع الرابطة α أو β بين السكر والأجليكون من خلال ثابت الاقتران لـ "H_1، "H_2 حيث يمتاز الجليكوز بالرابطة β و يظهر "H_1 بإشارة ثنائية بثابت تزاوج (J=7 Hz) ناتج عن تزاوج ثنائي محوري (diaxial) مع "H_2. كما يمتاز الرامنوز برابطة قـد تكون α بإشـارة ثنائية لـ "H_1 بثابت تزاوج (J=2 Hz) نتيجة الاقتران ثنائي استوائي (equatorial-equatorial). كما يمكن التعرف على سكر الرامنوز بظهور إشارة ثنائـي لمثيل السكر بثابت تزاوج (J=6 Hz) في المجـال (0,8-1,2 ppm) [4].

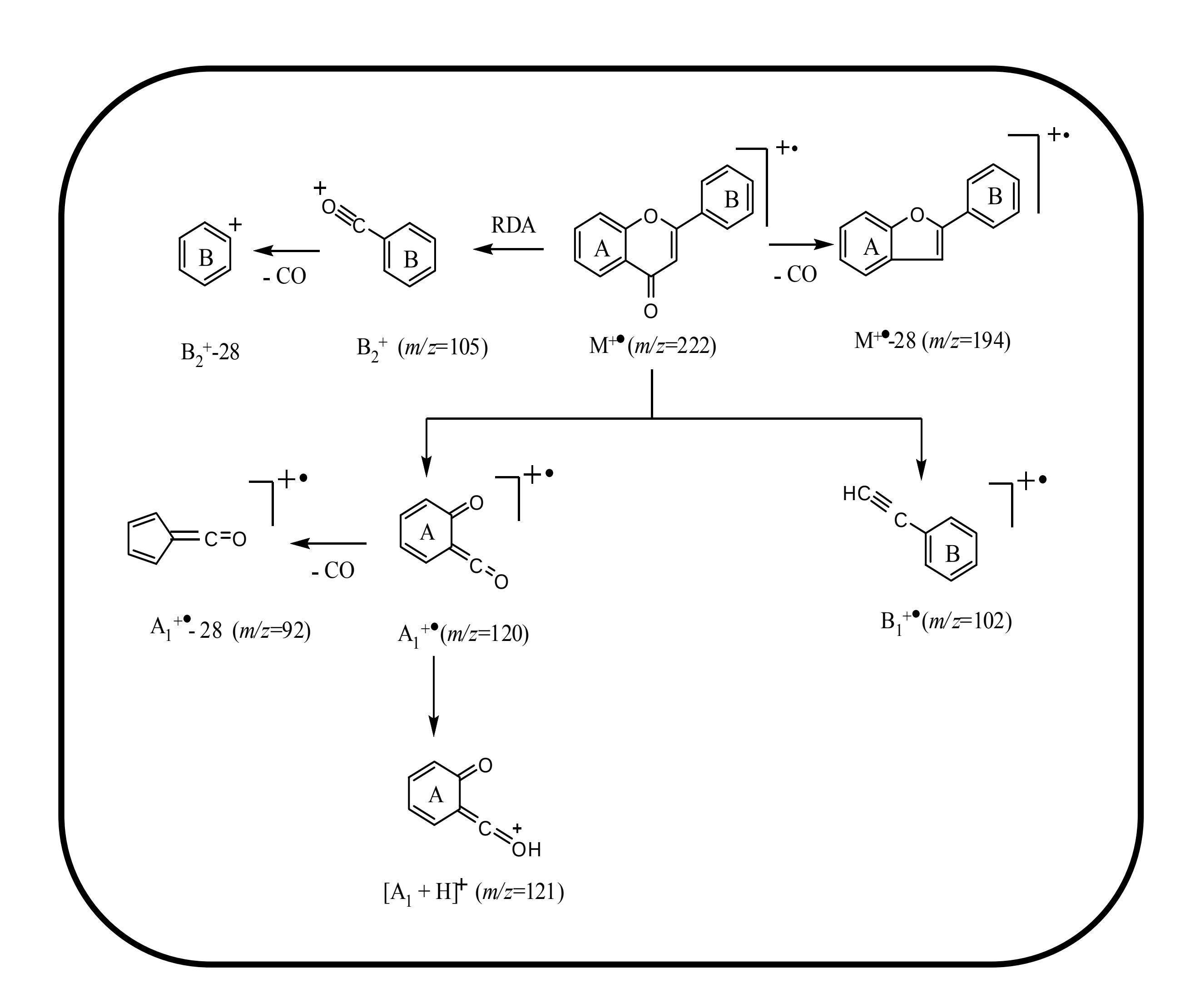
بالإضافة إلى الجليكوزيدات الأحادية ، فهناك جليكوزيـدات ثنائية السكـر ، أغلب هـذه المركبات يكون الجزء السكري منها إما Rutinose أو Neohesperidose، و يمكن التفريق بينهما بظهور إشارة "H-1 في (7,3-O-rutinosides) في المجال (4,2-4,4 ppm) بثابت تزاوج (J=2 Hz) مع إشـارة مثيل الرامنوز في المنطقة (0,7-1 ppm) ، في حين تظهـر أما إشارة "H-1 في (7,3-O-neohesperidosides) في المجال (4,9-5 ppm) بثابـت تزاوج (J=2 Hz) مع ظهـور إشـارة مثيل الرامنوز في المجال (1,1-1,3 ppm) [68].

5-3-مطيافية الكتلة:

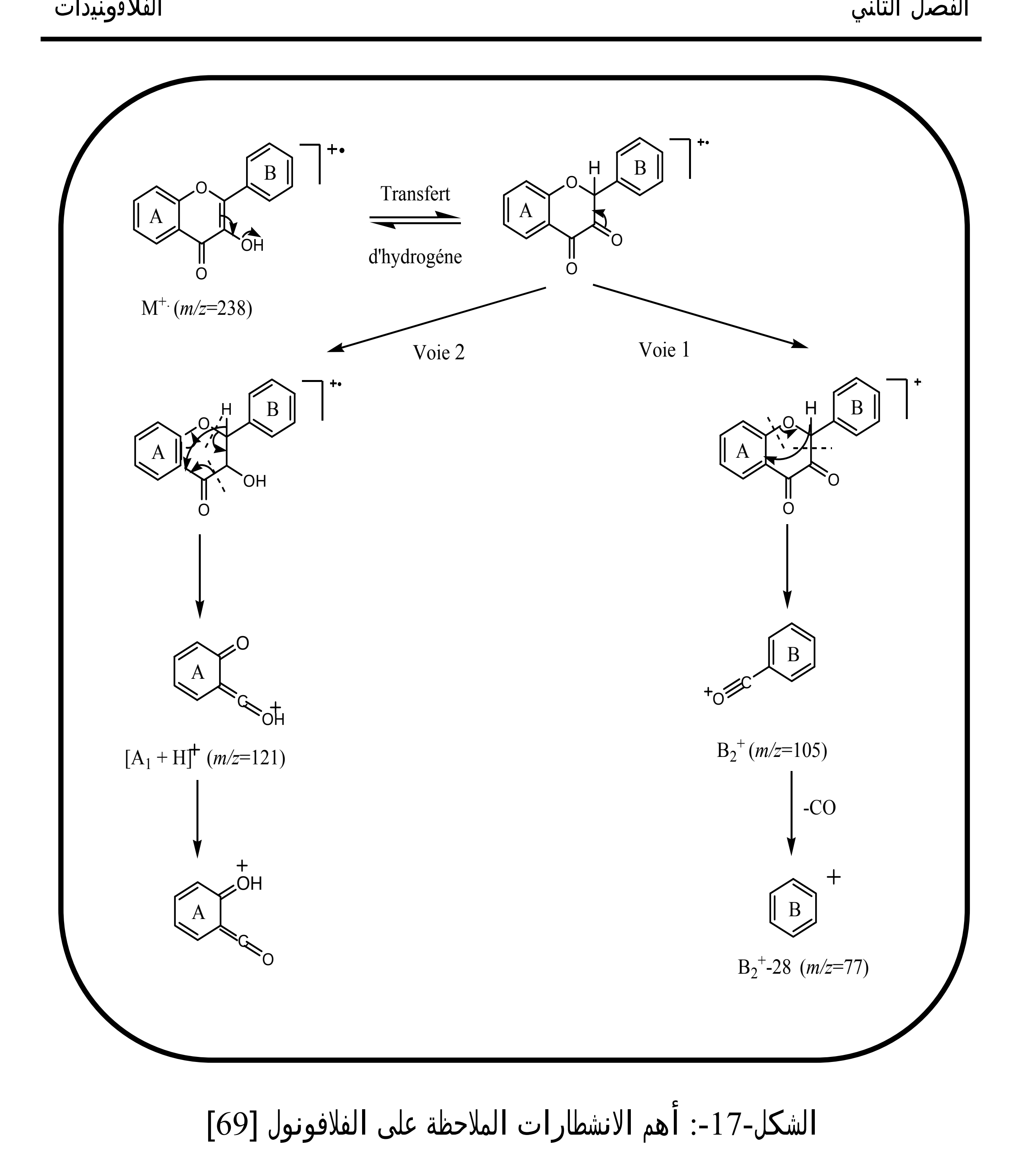
مطيافية الكتلة ككل الطرق التحليلية تعطي معلومات عن بنية المركبات الفلافونيدية ، تكمن أهميتها في كونها تتطلب كمية قليلة من المركب (جزء من ملغ). فمن خلالها يمكن معرفة الوزن الجزيئي ، و بالتالي معرفة الصيغة المجملة للمركب الذي يبين نوعية المستبدلات ميثوكسيلية كانت أو هيدروكسيلية كما تمكّن قيم الشظايا من معرفة كيفية توزع هذه المستبدلات على الحلقتين A، B، وتعتمد هذه التقنية على عدة طرق للتأين أهمها : طريقة القذف الإلكتروني (IE) [69] التي

تكون صالحة خاصة مع الأجليكونات، فالشكلين (16) و(17) يوضحان أهم الانشطارات الملاحظة عن الفلافون والفلافونول على التوالي.

مع تطور مطيافية الكتلة ظهرت تقنيات جديدة، كتقنية Electro-spray، و تقنية القذف بالذرات المسرعة FAB، و التي تتميز بتأين المركبات السهلة الانكسار بالحرارة دون تسخين، كالجليكوزيدات مما يسمح بثباتها و دراستها [70، 71]، وتؤدي هاتان التقنيتان إلى تكوين أيونات شبه جزئية مثل $(M+Na)^+$، $(M+Ca)^+$، $(M+H)^+$، $(M-H)^-$....



الشكل-16-: أهم الانشطارات الملاحظة على الفلافون [69]



الشكل-17-: أهم الانشطارات الملاحظة على الفلافونول [69]

6-3-الإماهة الحمضية:

بالإضافة إلى التقنيات السابقة يمكن الاستعانة بالتميه الحمضي للتعرف على عدد و نوع السكريات الموجودة في المركبات الجليكوزيدية إذ تعمل هذه التقنية على كسر الرابطة (C-O)

الجامعة بين السكر و الأجليكون. و الشكل (18) يبين الإماهة الحمضية للفلافونيدات الجليكوزيدية في حالة O– جليكوزيل و C– جليكوزيل [72].

Gly-O
H +
HO
+ Glycoside
Flavone-O-glycoside
Flavone
Gly-O-Gly
H +
Gly
+ Glycoside
Flavone-C-glycoside

الشكل-18-: الإماهة الحمضية للفلافونيدات الجليكوزيدية

تتم عملية التميه الحمضي في أنبوب اختبار بأخذ كمية قليلة من الفلافونيد الجليكوزيدي مذاب في حوالي (1 مل) من الميثانول و يضاف له (1 مل) من حمض كلور الماء HCl (2N) ثم يسخن في حمام مائي 100 م° لمدة 15 إلى 120 دقيقة.

بعد تبريد الأنبـوب يعمـد إلى استخلاص من نوع سائل/سائل بدءا بإيثر الإيثيـل (Ether éthylique) بعد الرج الجيد يترك الأنبوب للراحة لتنفصل بعدها الطبقة العضوية عن المائية، تكرر العملية مرة أخرى مع خلات الإيثيل (Acétate d'éthyle) ثم البيوتانول العادي (n-butanol).

تركـز الطبقات العضوية كلا على حدة (التي تحوي الأجليكون) الذي يمكن التعرف عليه بتسجيل طيف الأشعة فوق البنفسجية له (UV) و كذا بإجراء كوكروماتوغرافيا (CCM) مع شواهد أجليكونية، أما الجزء السكري من الجليكوزيد فيبقى مذابا في الطبقة المائية التي يتم تجفيفها ثم يعاد غسلها بالماء لتجف من جديد تكرر هذه العملية عدة مرات للتخلّص من HCl و أخيرا تغسل بالميثانول للتخاص من أثار الطبقة العضوية ثم يعاد إذابتها في الماء لتكون جاهزة للتحليل.

و للتعرف على نوع السكر المنفصل يعمد إلى تحضير ألواح كروماتوغرافية من Gel de terre silicieuse Merck F_{254} ترش بمحلول NaH_2PO_4 (0,2M) تترك لتجف في الهواء ثم توضع في فرن تحت درجة حرارة 100 م° لمدة ساعة كاملة. بعدها توضع نقطة من الطبقة المائية الحاوية على الجزء السكري بالموازاة مع بعض الشواهد السكرية المعروفة ، يغمس اللوح الكروماتوغرافي في المماص: (أستون / ماء : 90 / 10)، بعد هجرة البقع السكرية يستخرج اللوح الكروماتوغرافي ليجف في الهواء لمدة ساعة بعدها يرش بكاشف مالونات الأنيلين و يسخن عند 100° لمدة 5 دقائق حيث تبدأ بقع السكريات بالظهور بلون داكن و تأخذ اللون الأصفر تحت (UV). و الجدول (14) يبين قيم R_f لبعض السكريات الشائعة [63].

الجدول-14-: قيم R_f لبعض السكريات الشائعة

الشواهد السكرية	R_f
α(L) rhamnose	0,88
D(+)-xylose	0,79
L(+) arabinose	0,66
β-D(+) glucose	0,53
D(+) galactose	0,33

المراجع

[1] Williams, C.A., Grayer, R.J. (2004), Anthocyanins and other flavonoids. Natural Products Repopts 21, 539–573.

[2] Harborne, J.B. (1975), « The flavonoids » *Vol.I*, Chapman and Hall.

[3] Harborne, J.B. (1989), The flavonoids, advances in research since 1980, eds. Chapman and Hall, New York.

[4] Mabry, T.J., Thomas, M.B., Markham, K.R. (1970), « The systematic identification of flavonoids », p. 13, Springer-Verlag, Berlin.

[5] Bruneton, J. (1999), « Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales», p.1120, (3ème édition) Tec & Doc Lavoisier .Paris.

[6] Davis, B . D. (1955), Advanced in Enzymology, 16, 227.

[7] Richtre, G. (1993), «Métabolisme des végétaux» (physiologies et biochimie). Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne.

[8] Ribereau-Gayou, J.B. (1968), «The phenolic compounds of vegetals», Dundo, Paris.

[9] Deluca, V., Ibrahim Arch, R.K. (1985a), p. 496–605; (1985b) p. 596–605. Biochem. Biophys. 238.

[10] Harborne, J.B., Mabry, T.J., Mabry, H. (1975), The Flavonoids *Vol.II*, Academic press, New york, Sanfrancisco.

[11**]** Bruneton, J. (1993), «Pharmacognosie et Phytochimie des Plantes médicinales», 2[éme] ed. Tec et Docum, Paris, p. 119, p.266.

[12] Harborne, J.B. (1994), (Eds), «phytochemical dictionary of the legumeneusae», vol. 1, Chapman and hall, London, pp. XX-XXII.

[13] Stafford, H. A. (1997), «Rol of Flavonoids is symbiol and defuse functions in legume roots», Bot. rev (1997) 63, 27-39.

[14] Eyton. W. B., Ollis. W. D., Sutherland. I. O., Gottlieb. O. R., Tavira magalhaes. M. (1965), Proc. Tetrahedron, 21, 2683.

[15] Elhazimi. H. (1995), The natural product, 149-190.

[16] Medić-Šarić, M., Jasprica, I., Smolčić-Bubalo A., Mornar A. (2004), «Optimization of Chromatographic Conditions in Thin Layer Chromatography of Flavonoids and Phenolic Acids». Croatica Acta. 77(1-2), 361-366.

[17] Marfak A. (2003), Thése de Doctorat de l'Universite de Limoges. Spécialité : Biophysique. 187p.

[18] Justen, U., Knuthsen, P., Leth, T. (1998), Journal of chromatography A 799(1/2): 101-110.

[19] Bronner, W.E., Beecher, G.R. (1995), *Journal of Chromatography A.* 705: 247-256.

[20] Hollman, P.C.H., Hertog, M.G.L., Katan, M.B. (1996), *Food Chem*. 57: 43-46.

[21] Crozier, A., Jensen, E., Lean, M.E.J., McDonald, M.S. (1997), *J. Chromatography A.* 761 : 315-321.

[22] Lugasi, A., Hóvári J., Sági K. V. et Bíró L. (2003), Acta Biologica Szegediensis. 47(1-4), 119-125.

[23] Wang, J., Mazza G. (2002), J. Agric. Food Chem. 50, 4183-4189.

[24] Harborne, J. B., Mabrry, T. J. (1975), The flavonoids, *Vol.I* , *Vol.II,* edition Chapman and Hall, London.

[25] Silva, M. S. A., Caveliro, A. S. (1992), 16ème Assemblé du Groupe Polyphénols, Lisbon, 16.

[26] Mc.Lure, J.W. (1975), In « Physiology and Fonction of flavonoids» (Harborne, J.B. eds) Chapman and Hall. London, 970-1055.

[27] Wollenweber, E., Dietz, V.H. (1980), Biochemical Systematic and ecology. 8, 21.

[28] Paris, M., Hurabielle, M. (1981), Abregé de Matiére Médicale.Pharmacognosie. Vol. I. Paris - New York – Barcelone, Masson.

[29] Havsteen, B. (1993), Biochem. Pharmacol, **32**, p. 1141.

[30] Ruzika, L. (1959), Proc. Chem. Soc, p. 541, London.

[31] Starvric. Mutula, T. I. (1992), «Flavonoids in food. Their significance for nutrition and health», p. 274-294.

[32] Aruoma, O., Springer, J. P. E., Butler, J., and Halliwell, B. (1995), Free Rad. Res, **22**, p. 187-190.

[33] Middleton, E., Kandaswami, J. R. C. (1992), Biochem. Pharmacol, **43** (6), p. 1167-1179.

[34] Manthy-John, A., Guthrie, N. Ghamann, K. (2001), Curent medical chemistry , **8** (2), p. 135-240.

[35] Christopher, J. F., Neil-Thowers, G. H. (1992), Phytochemestry, **31** (9), p. 3017-3020.

[36] Hérisset, A., Chaumont, J. P. Paris, R. (1973), Plantes médicinales et phytothérapie, Vol.**7**; p. 234-240.

[37] Ravanel, P. et coll, (1995), Plantes médicinales et phytothérapie, **22**, p. 187-190.

[38] Cisonski, W. (1984), Herba pol, **30**, p. 219-231.

[39] Ryu, S. H., Yoo, B. T., Ahn, B. Z., Pack, M. Y. (1985), Arch. Der Pharm, **318**, p. 659.

[40] Geahlen, R. L., Koonchanok, N. M., Mclannghhlin, J. L., Pratt, D. E. (1989), J. Nat. Prod, **52** (5), p. 982-986.

[41] Baarberan, F. A. T. (1986), Fitoterapia, 57 (2), p. 67-95.

[42] Cretti, L. (1981), Edition atlas.
[43] Agrawal, O. P. (1982), Agents Actions, 12, p. 198.

[44] Vivan, C., Elliot Middleton, J. R., Harborne, J. B. (1985), Plants flavonoids, biology and medecine, 213, Alan R. Liss, New York.

[45] Gabor, M., Engie, E. (1985), Group polyphenols J. int. d'étude, plovdiv May 31-June 4, Bull.

[46] Amellal, M., Bronner, C., Briancon, F., Haag, M., Anton, R., Lanry, Y. (1985), Planta Medica, 16.

[47] Sankawa, U., Chun, Y. T. (1985), (H. M. Chang; W. W. Tso and A. Koo, eds), p. 171, World Scientic Publ. Co, Singapore.

[48] Barberan, F. A. T., Gil, M. I. (1987), Rev-Lanoam. Quim, **21**, p. 134-139.

[49] Morton, J. F. (1977), Major medicinal plants, Botany culture and uses, p. 269-280.

[50] Beaquesne, B. (1987), plantes médicinales et phytothérapie, Vol. 21 (1), p. 79-93.
[51] Ryu, S. H., Ahn, B. Z., Pack, M. Y. (1985), Planta Medica, p. 355 et 462.

[52] Nkunya, M. H. H., Waibel, R., Achenback, H. (1993), Phytochemestry, 34, p. 855-858.

[53] Selway, J. W. T. (1985), in Plant Flavonoids, Biology and Medecine, p. 521-536.

[54] Bruneton, J. (1987), Eléments de Phytochimie et de pharmacognosie, Techniques et documentation, Lavoisier.

[55] Kim, M. N., Lescao-Bogert, L., Paris, M. (1992), Planta Medica, 58, p. 285-286.

[56] Vlietinck, A. J., Vanden-Berghe, D. A., Van Hoof, L. M., Vrijsn, R., Boeye, A. (1985), in Plant Flavonoids, Biology and Medecine, p. 537-540.

[57] Ishitsuka, H., Ohsawa, C., Ohiwa, T., Umeda, I., Suhara, Y. (1982), Antimicrob Agents Chemother, 22, p. 611-616.

[58] Robin, V., Irurzun, A., Amoras, M., Boustie, J., Carrasco, L. (2001), Antivir Chem Chemother, p. 283-291.

[59] Cardinas, L. C., Rodriguez, J., Villaverde, M. C., Rignera, R., Cadena, R., Otero, J. A. (1993), Planta Medica, **59**, p. 26-27.

[60] Nishino, H., Iwashima, A. (1983), In C. A, 99, 13359.

[61] Schwartz, A. et Middleton, E. (1984), Immunopharm, 7, p. 115-126.

[62] Samejima, K., Kanazawa, K. Ashida, H. Danno, G. (1995),. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 43, 410-414.

[63] Harborne, J. B., Boulter, D., Turner, B.L. (1971), «Chemotaxonomy of the Leguminosae», Academic press, London.

[64] Markham, K.R. (1982), «Technique of flavonoid identification», Academic press, London.

[65] Jurd, L., Horowitz, R. (1962), The Chemistry of Flavonoid Compounds, T. A. Geissman (editor), Pergamon Press,, Oxford, 107-2055.

[66] Wollenweber, E. (1982), In the flavonoids-Advances in Research (Harborne, J.B. and Mabry, J.J. eds. Chapman and Hall, London, New York).

[67] Lacaille-Dubois, M.A., Wagner, H. (1992), 20ème Aniversaire du groupe polyphenols (book of abstacts) vol I (16), 217, 13-16.

[68] Markham, K.R. and Geiger, H. (1994), In The Flavonoids, edited by Harborne, J.B. (1993). Chapman and Hall, London.

[69] Audier, H. (1966), *Bull. Soc. Chim. France*, 9: 2892-2899.

[70] E. CONSTANTIN - P. TRALDI - D. FAVRETTOA. SCHNELL. *Spectrométrie de masse*, Lavoisier.

[71] Williams, D.H., Bradley, O., Bojesen, G. Santikarn, S., Taylor, C.E. (1981), J. Am. Chem. Soc. 103, 5700-5704.

[72] Gonnet, J.F. (1973), J. of chromato. 86, 192

الفصل الثالث

الجزء العملي

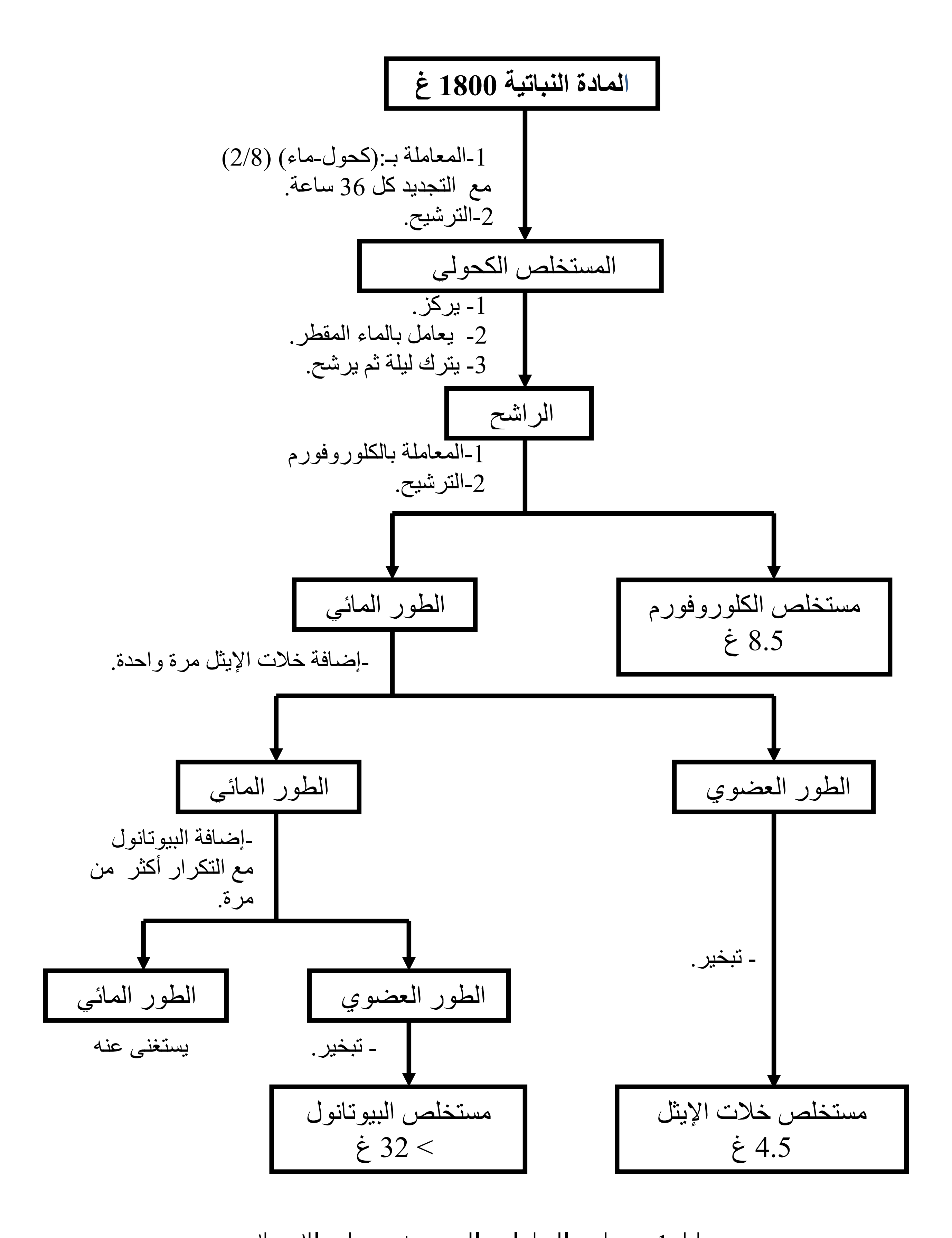
الدراسة الكيميائية لنبات *Pulicaria crispa*:

I-المادة النباتية:

تم جمع ***Pulicaria crispa*** في شهر أفريل 2004 من مدينة المرارة القريبة من مدينة تقرت ولاية ورقلة. أجريت عملية تجفيف للمادة النباتية في مكان خاص تحت الظلّ و بعيدا عن الرطوبة حيث كان الوزن المستعمل و المتمثل في الأجزاء الهوائية 1800 غ.

II-الاستخلاص:

بعد تجفيف النبتة وسحقها تم نقعها في محلـول كحـولي ($MeOH / H_2O$: 80/20) و تركت لمدة 36 ساعة، ليرشح بعدها و يركز الراشح أما المحلول المسترجع بعد التركيز فيجدد بالكمية الكافية لغمر المادة النباتية و هذا لإعادة العملية حتى يضعف تركيز لون الراشح أي استخلاص أكبر كمية ممكنة و لذلك كررنا العملية 4 مرات، و في المرحلة التالية قمنا بإذابة المستخلص الخام المركز المتحصل عليه في حوالي 1.8 ل من الماء المقطر الدافئ ثم تركناه ليلة كاملة للراحة، تلتها عملية الترشيح (تخلصنا من الراسب). ثم قمنا بفصل انتقائي للأطوار؛ حيث بدأنا بالكلوروفورم بنسبة3/1 من حجم المستخلص المذاب في الماء المقطر مع رج خفيف و تركناه مدة زمنية كافية حتى انفصل الطوران ثم قمنا بتركيزه و كررنا العملية حتى غاب اللون المميز لهذا الطور، ثم نقلنا المستخلص المركز في وعاء بإذابته في القليل من الكلوروفورم. بنفس الطريقة عاملنا الطور المائي بخلات الإيثيل (مرة واحدة)، ثم بالبيوتانول النظامي لأكثر من مرة -كل المراحل السابقة موضحة في المخطط (1).



مخطط-1- مختلف الخطوات المتبعة في عملية الاستخلاص

بما أن هدفنا من هذا البحث هو دراسة الأيض الفلافونيدي لنبات الجثجاث ارتكز اهتمامنا على الطور البيوتانولي أين يكثر تواجد هذا النوع من المركبات.

III-عمليات الفصل:

1-العمود الكروماتوغرافي:

1-1-طريقة العمل:

حضرنا العمود الكروماتوغرافي بوضع قطعة من القطن أسفله ثم أضفنا الدعامة المتمثلة في متعدد الأميد (polyamide SC6) حتى ارتفاع (2/3) ثلثي العمود و أضفـنـا بعدها التولوين لعدة مرات لرص الدعامة بشكل جيد .

كمرحلة ثانية قمنا بتحضير المستخلص- و الذي كان في هذه الدراسة وزنه حوالي 30 غ من المستخلص البيوتانولي –و ذلك بإذابته في أقل كمية ممكنة من الميثانول و وضعناه من على الطبقة العلوية لمتعدد الأميد، و بدأنا التمليص بإضافة المذيب الأقل قطبية و المتمثل في التولوين ثم زدنا في القطبية بإضافة الميثانول بشكل تدريجي إلى غاية الوصول إلى المملص عالي القطبية أي الميثانول الصافي فقط. و قد تمت متابعة الحزم النازلة بمصباح الأشعة فوق البنفسجية UV و التي يتم استقبالها في دوارق و بعدها تركز تحت ضغط منخفض، فحصلنا على الكسور الموضحة في الجدول (1):

الجدول-1-: الكسور المتحصل عليها من عمود متعدد الأميد للطور البوتانولي

أرقام الكسور	نسبة التولوين في المملص(٪)	نسبة الميثانول في المملص(٪)
5 – 1	100	0
10– 6	98	2
19–11	95	5
30 – 20	90	10
41 – 31	85	15
55 – 42	80	20
70 – 56	70	30
86 – 71	60	40
101 – 87	50	50
116 – 102	40	60
121 – 117	20	80
125–122	0	100

1-2-تجميع الكسور المتشابهة:

نقوم بتجميع الكسور المتشابهة في أغلب الاختبارات الكروماتوغرافية أحادية البعد التالية:

❖ كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (CCM) حيث الدعامة الصلبة عبارة عن متعدد الأميد DC6.6 و المملصات هي:

- (S.I) تولوين / ميثيل إيثيل سيتون / ميثانول : 3/3/4
- (S.II) ماء / إيثانول / ميثيل إيثيل سيتون / أستيل أسيتون : 1/3/3/13
- (S.III) ماء / ميثانول / بوتانول نظامي / حمض الأستيك : 2/25/20/60

❖ الكروماتوغرافيا الورقية (CP) تتمثل الدعامة في ورق Whatman أما المملصات فهي:

- (S.IV) حمض الخل (AcOH) : 30 ٪.
- (S.V) B.A.W : 4/1/5؛ نستعمل الطبقة العضوية أي العلوية.
- (S.VI) حمض الخل (AcOH) : 15 ٪.

استطعنا تجميع الكسور بالشكل الموضح في الجدول (2):

الجدول -2-: الكسور بعد الجمع

الكسور المحصل عليها من العمود	الكسور بعد الجمع
1	1
3– 2	2
30–4	3
37–31	A
57–38	B
71–58	C
73–72	D
77 – 74	E
85 – 78	F
103–86	G
107 – 104	H
125–108	I

و لاختيار الكسور التي ستتم دراستها ، أجرينا عليها مختلف الاختبارات الكروماتوغرافية السابقة الذكر . حيث أخذنا بعين الاعتبار التركيز على الكسور التي تحتوي على معظم الفلافونيدات المحتمل وجودها في *Pulicaria crispa* و هذا بالاعتماد على اللون و ثابت الانحباس أولا و كمرحلة ثانية اهتممنا بالكمية .

و الكسور التي تم اختيارها للدراسة هي : B, C, D, E, F, G و الجدول-3- يوضح الكسور المختارة مع أوزانها.

الجدول -3-: الكسور المختارة

الكسور المختارة	الأوزان (غ)
B	4.9009
C	0.257
D	0.2764
F	1.1229
G	0.8279
E	1.0341

أجرينا اختبارات كروماتوغرافية لإيجاد الملصات المناسبة فكانت كما يلي:

بالنسبة للكسور: B (أخذنا 1غ فقط)، F، G تمت معالجتها بواسطة كروماتوغرافيا الورق (Whatman N°3) التحضيرية و استخدمنا حمض الخل 30٪ كمماص، في حين استعملنا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من البولي أميد لمعالجة الكسر C باستخدام المماص $H_2O/EtOH/BuOH/AcOH$: 60/20/25/2، أما بالنسبة للكسرD استعملنا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من السيليكاجال باستخدام المماص $AcOEt/H_2O/AcOH$: 8/0.5/0.5، و كانت النتائج كالتالي :

- أعطى الكسر B بعد معالجته بواسطة كروماتوغرافيا الورق (Whatman N°3) التحضيرية واستخدمنا حمض الخل 30٪ كمماص، أربع حزم وهي: B_1, B_2, B_3, B_4.

قمنا بفصل تحت الكسر B_4 عن طريق كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في البولي أميد واستعملنا كمماص H_2O /MeOH/MEC/Acétylacétone : 13/3/3/1، فحصلنا على المركب B_{41}؛ هذا الأخير تبلور على شكل إبر (cristaux) لكن لم نتمكن من تحديد صيغته نظرا لقلة الكمية ولأنه لا يذوب في الميثانول ولا في الماء.

أجرينا سلسلة من عمليات الفصل والتنقية باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة على تحت الكسور الباقية غير أن الكميات المحصل عليها من المركبات النقية حالت دون تمكننا من إجراء تحاليل طيفية عليها.

- بالنسبة للكسر C فقد عالجناه بواسطة كروماتوغرافيا من البولي أميد باستخدام المماص

H_2O/EtOH/BuOH/AcOH : 60/20/25/2، ونتج لدينا ستة حزم $C_1, C_2....C_6$ ، أجرينا عليها سلسلة من عمليات الفصل والتنقية فتحصلنا على المركبين النقيين C_P و C_{324}، ومركبات أخرى لكن بكميات قليلة جدا.

- و بالنسبة للكسر D فقد استعملنا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة من السيليكاجال باستخدام المماص AcOEt /H_2O/AcOH : 8/0.5/0.5، فكانت النتائج كالتالي فقد أعطى خمسة حزم $D_1,D_2,....D_5$ ، كل من المركبين D_5 وD_2 تم فصلهما في صورتهما النقية، أما تحت الكسور الأخرى فقد أجرينا عليها سلسلة من عمليات الفصل والتنقية باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في السيليكاجال فتحصلنا على المركبات النقية التالية : D_{42}, D_{p1}, D_{p2}.

- بالنسبة للكسر E فقد قمنا بتنقية الراسب الأصفر باستعمال كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في السيليكاجال فتحصلنا على المركب E_P .

- بالنسبة للكسر F فقد تمت معالجته بواسطة كروماتوغرافيا الورق (Whatman N°3) التحضيرية و استخدمنا حمض الخل 30٪ كمماص، فأعطى سبعة حزم بعد فصله بكروماتوغرافيا الورق $F_1, F_2 \ldots F_7$، أجرينا عليها سلسلة من عمليات الفصل والتنقية بكروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في البولي أميد باستخدام المماص $H_2O/EtOH/BuOH/AcOH$: 60/20/25/2، وكذا السيليكاجال فحصلنا على المركبات النقية التالية : F_{421} , F_{4p}, F_P , F_{P2} .

- أما بالنسبة للكسر G؛ أجرينا عليه سلسلة من عمليات الفصل والتنقية بواسطة:

كروماتوغرافيا الورق (Whatman N°3) التحضيرية و استخدمنا حمض الخل 30٪ كمماص، وكذا كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة في البولي أميد باستخدام المماص $H_2O/EtOH/BuOH/AcOH$: 60/20/25/2، لكن تحصلنا على مركبات بكميات قليلة جدا ما لم يمكنا من تحديد صيغتها بالطرق التحليلية المتوفرة لدينا.

وفي الفصل الموالي نعرض مراحل التعيين البنيوي لمختلف المركبات المفصولة.

الفصل الرابع

النتائج و المناقشة

التعيين البنيوي :

اعتمدنا في التعرف على البنى الكيميائية للمركبات النقية المتحصل عليها على:

- اللون الاستشعاعي و السلوك الكروماتوغرافي.
- مطيافية الأشعة فوق البنفسجية ـ المرئية.
- الرنين النووي المغناطيسي RMN ^1H (250.13 MHz)، والمذيب المستعمل هو الميثانول (CD_3OD).

و لدينا في الجدول-1-كل المركبات الفلافونيدية المحصل عليها مع قيم ثابت الانحباس لها R_f في الأنظمة التالية:

- (I) 3: 3: 4 Toluène/MeCOEt/MeOH — ك.ط.ر على متعدد الأميد DC6.6
- (II) 13:3:3:1 H_2O/MeCOEt/EtOH/$(Ac)_2CH_2$ — ك.ط.ر على متعدد الأميد DC6.6
- (VI) 15% : AcOH ك.ط.ر على السيليلوز.

الجدول -1-: قيم R_f في الأنظمة (I)، (II)، (III)

المركبات	قيمة $R_f \times 100$ في النظام		
	النظام (I)	النظام (II)	النظام (III)
F_{4P}	17.77	20	13.63
F_{421}	18.88	21.11	13.75
E_P	18.33	20	13.63
F_{p2}	18.88	19.44	14.77
C_P	20.55	22.22	11.93
D_P	17.77	22.22	13.06
D_6	18.88	22.77	14.77
D_{P1}	16.66	21.11	14.77

و من خلال مقارنة المعلومات الطيفية وجدنا تشابها بين بعض المركبات و هذا كما هو موضح فيما يلي:

I-التعيين البنيوي للمركب $E \equiv F_{421} \equiv F_{4P}$:

نأخذ المركب F_{4P} كمثال للدراسة نظرا لتشابهه مع المركبين الآخرين:

I-1-السلوك الكروماتوغرافي:

* اللون الاستشعاعي تحت الأشعة فوق البنفسجية : أصفر.

*معامل الاحتباس (R_f): توضح قيم معامل الاحتباس في الجدول (2).

الجدول -2-

الجملة	$R_f \times 100$
I	17.77
II	20.00
III	13.63

I-2-المعطيات الطيفية:

I-2-1-مطيافية الأشعة فوق البنفسجية:

الجدول -3- نتائج (UV)

الكواشف	العصابة II (ن.م)	العصابة I (ن.م)
MeOH	259	375
NaOH	272	447 مع DO ↗
NaOH+5min	الطيف غير مستقر	
$AlCl_3$	273	448
$AlCl_3$+HCl	269	431
NaOAc	260	383
NaOAc+H_3BO_3	264	392

I-2-2-مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون:

الجدول -4- نتائج RMN ^{1}H

الإزاحة(δ.ppm)	التعددية(J.Hz)	التكامل	رقم الهيدروجين
6.91	8.52 *d*	1H	H-5'
7.8	2.12 *d*	1H	H-2'
7.7	8-2 *dd*	1H	H-6'
6.92	*s*	1H	H-8
3.91	*s*	3H	O-CH_3
5.13	7.42 *d*	1H	H-1"
3.96	12-2 *dd*	1H	H-6''a
3.74	12.2-5.9 *dd*	1H	H-6''b
3.46-3.65	*m*	4H	H-4'', H-3'' H-2'', H-5''

I-2-3- الحلمهة الحمضية:

✓ الشق الأجليكوني :

- اللون الاستشعاعي : أصفر
- مطيافية(UV) :

الكاشف	العصابة II (ن.م)	عصابة جديدة(ن.م)	العصابة I (ن.م)
MeOH	263	-	378
NaOH	276	335	444

I-3-التعليل:

يشير السلوك الكروماتوغرافي في مختلف الجمل إلى كون المركب ايتروزيدا (أحادي السكر).

- اللون الأصفر تحت الأشعة UV و قيمة العصابة I في الميثانول (MeOH) λ_I=374 nm يدلان على أنه عبارة عن فلافونول غير مستبدل في الموضع 3.

- الإزاحة الباثوكرومية بـ: $\Delta\lambda_I$ (NaOH / MeOH) = +72 nm ، مع ارتفاع في شدة الامتصاص الضوئية (DO) تدل على وجود OH حر في الموضع '4 و تحلل الطيف مع مرور الوقت يؤكد وجود OH حر في كل من الموضعين 3 و '4 (3, 4'-di-OH).

- غياب عصابة ما بين 320-335 nm تدل على استبدال الموضع 7 أي 7-OR وهو ما تؤكده الإزاحة الصغيرة للحزمة II (+1nm) في الطيف المسجل بوجود NaOAc.

- الإزاحة الباثوكرومية بـ: $\Delta\lambda_I$ ($AlCl_3$+HCl / MeOH) = +56 nm دليل على وجود OH حر في الموضع 5.

- الإزاحة الإيبسوكرومية بـ: $\Delta\lambda_I$ ($AlCl_3$+HCl /$AlCl_3$) = -17 nm دليل على وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة B (3',4'-di-OH) ، و هو ما تؤكده الإزاحة الباثوكرومية بـ: $\Delta\lambda_I$ (NaOAc+H_3BO_3/MeOH) = +17 nm .

أما بالنسبة لطيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون :

* فإن وجود إشارات لبروتونات عطرية في المجال المنخفض ذات التعددية : *d* فـ *dd* ثم *d* تدل على كون الحلقة B ثنائية الاستبدال، و عليه-إضافة لما سبق- فإن '3، ´4 بهما OH حر.

- أما بروتونات الحلقة A فتظهر في مجال البروتونات العطرية (لكن في مجال أعلى من

بروتونات الحلقة B) على شكل إشارة أحادية عند 6.92 ppm خاصة بالبروتون 8 و هذا يعني أن الموقع 6 مستبدل.

- مع وجود مجموعة ميثوكسيل عند 3.91 ppm، و كون الموضع 7 مستبدل 7-OR كما بينت مطيافية الأشعة فوق البنفسجية يعني أن مجموعة OMe تتموضع إما في 6 أو 7.

- وجود إشارة لثنائية (J = 7.42 Hz) d عند: δ= 5.13 ppm تلحق بالبروتون الأنوميري للسكر.

و قيمة الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري تدل على أن المستبدل السكري يتصل مع الأجليكون برابطة من نوع كربون-أكسجين C-O ، أما بالنسبة لقيمة ثابت التزاوج فتدل على أن توجيه البروتون ’’H-2 محوري (axial) ما يقودنا إلى افتراض أن المستبدل السكري عبارة عن جلوكوز أو جلاكتوز.

كما يبين الطيف إشارتين من نوع dd الأولى عند 3.96 ppm(J=.12.1-2 Hz.) والثانية عند 3.74 ppm (J=.12.1-2 Hz.) تنسبان إلى البروتونين H-6"a و H-6"b على التوالي.

و تظهر في المجال 3.56-3.64 ppm إشارتين على شكل ثلاثي (t) بثابت تزاوج J = 7 Hz

إلا جانب ظهور إشارة dd عند 3.46 ppm بثابت تزاوج J = 9-8.2 Hz تلحق بالبروتونات H-2"، H-3" و H-4"

أما البروتون H-5" فظهر في المجال 3.55-3.65 ppm.

من المعلومات السابقة و نظرا لقيم ثوابت التزاوج بين البروتونين H-3" و H-4" حيث يمثل التزاوج من نوع محوري –محوري (di-axial) نستنتج أن بروتون الموضع 4" ذو اتجاه محوري (axial)؛ ما يرجح أن المستبدل السكري هو الجلوكوز.

ومنه يمكن اقتراح الصيغة التالية للمركب F_{4p}:

R_1=Me , R_2= Sucre

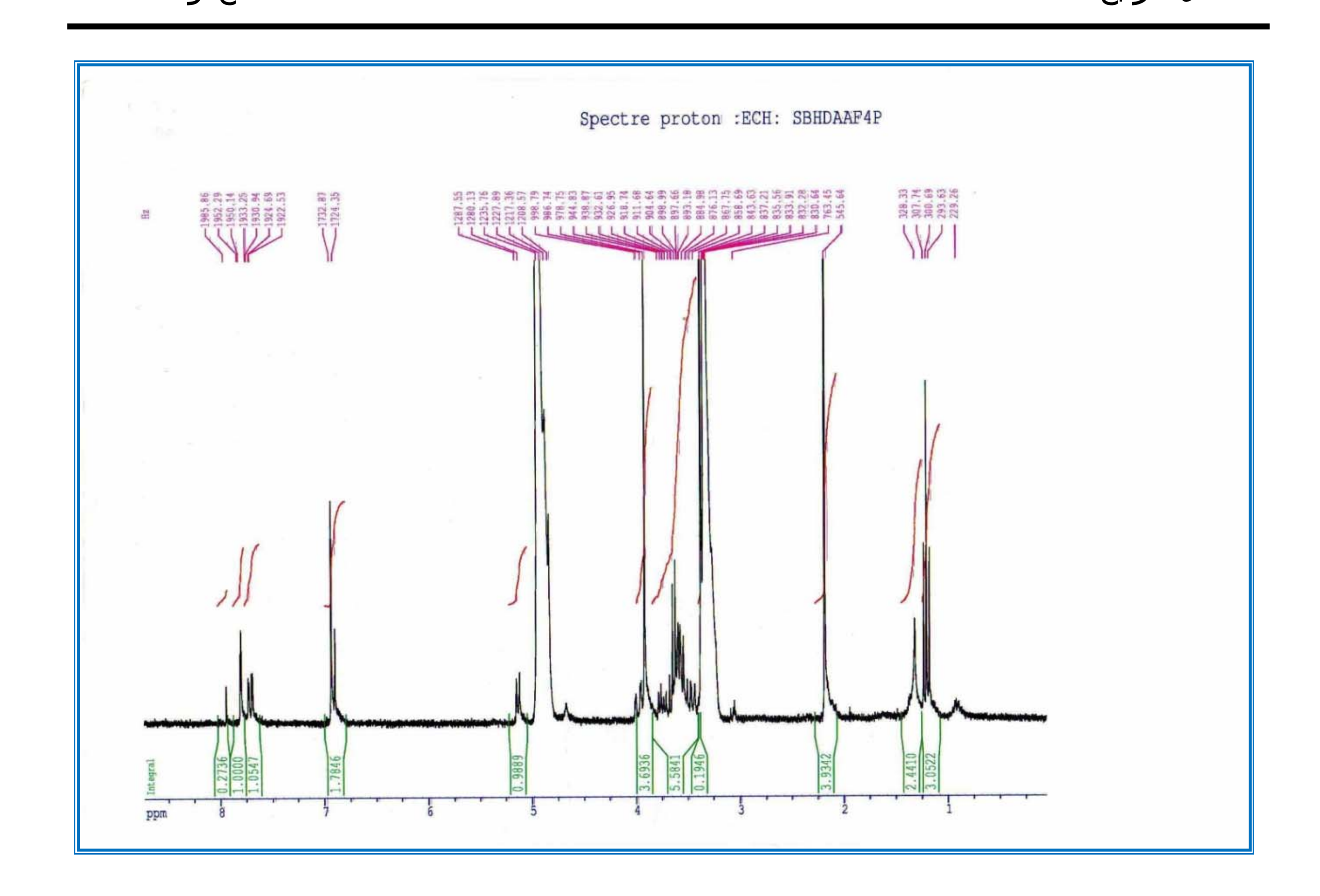
R_2=Me, R_1= Sucre

و للتأكد من الصيغة النهائية قمنا بإجراء الحلمهة الحمضية للمركب لمعرفة موضع ارتباط المستبدل السكري بتسجيل طيف الأشعة فوق البنفسجية للأجليكون المحصل عليه بعد إضافة الكاشف NaOH فظهرت عصابة جديدة عند 335 nm ما يدل على وجود مجموعة هيدروكسيل حرة في الموضع 7 (7-OH)؛ أين كانت تتموضع مجموعة السكر

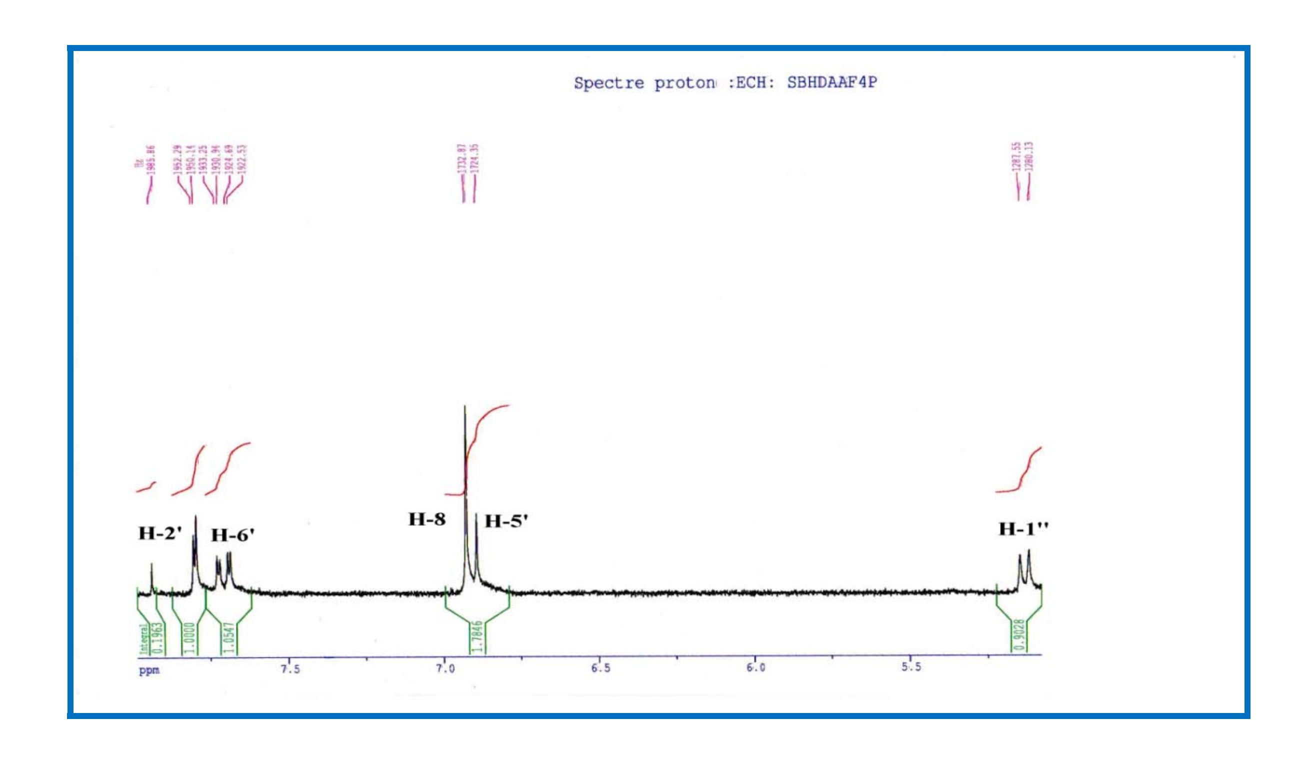
و منه فان صيغة المركب F_{4P} تكون كالتالي:

Patuletin 7-*O*-β-glucoside

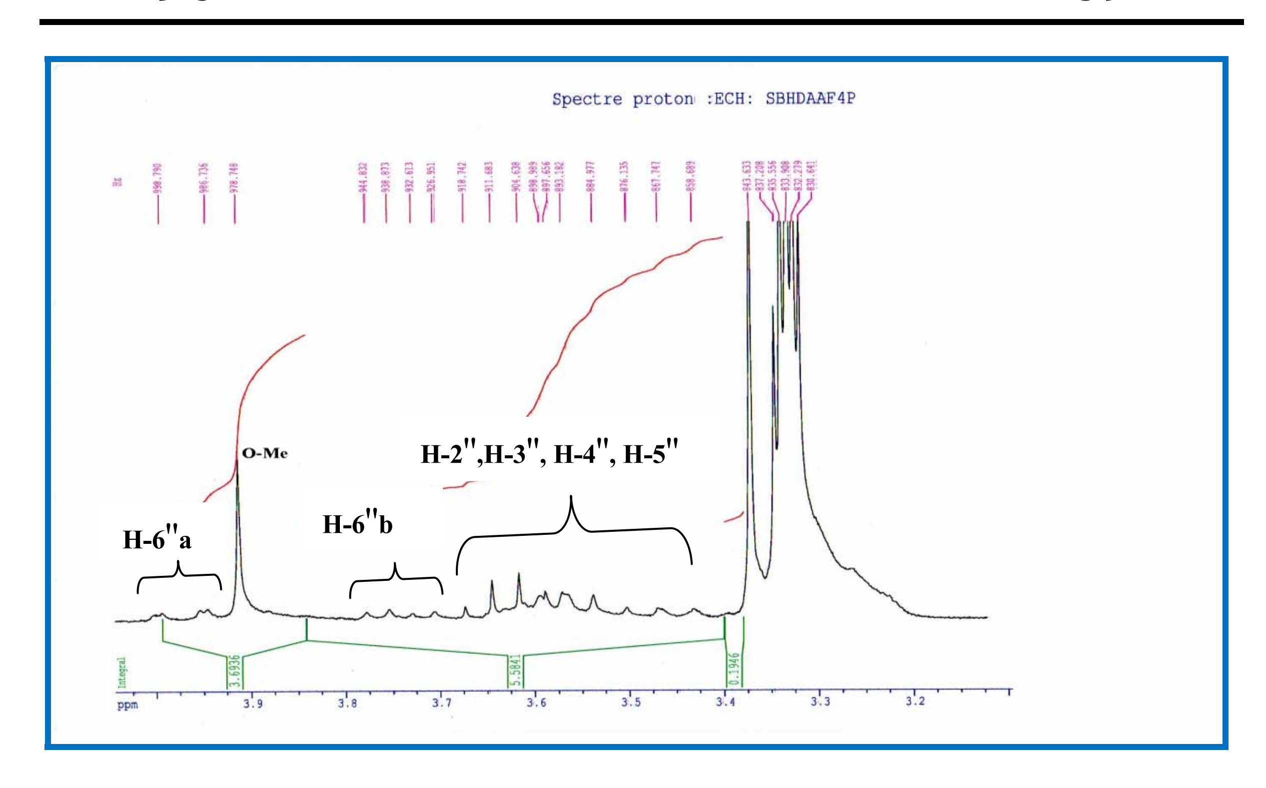
الشكل (1) يبين طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون للمركب F_{4P} والشكلين (2) و (3) توسيع للطيف في مختلف المجالات.



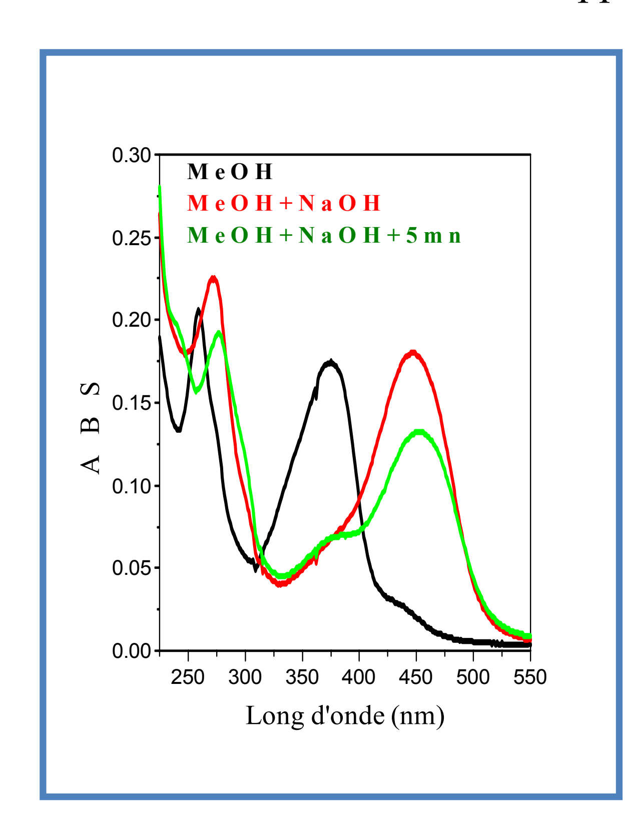
الشكل-1-: طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون للمركب F_{4P} (CD_3OD)

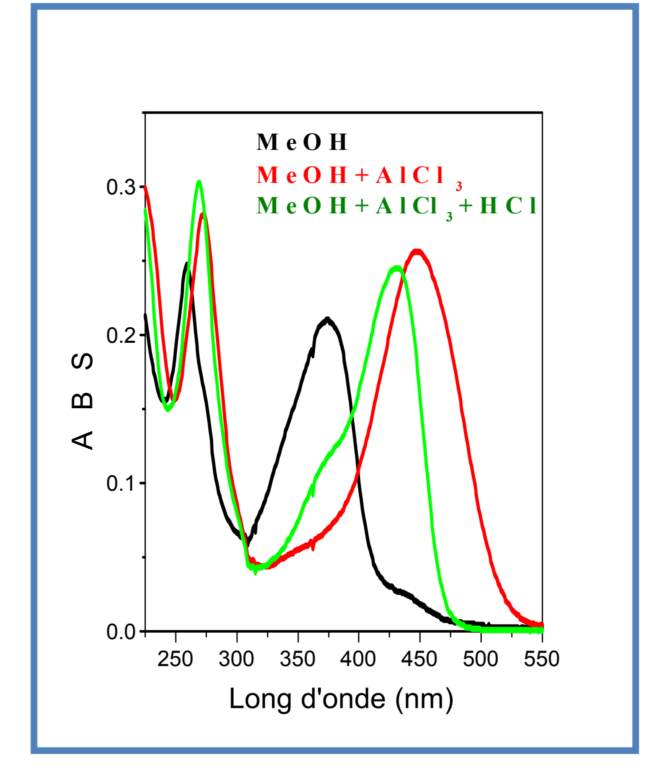


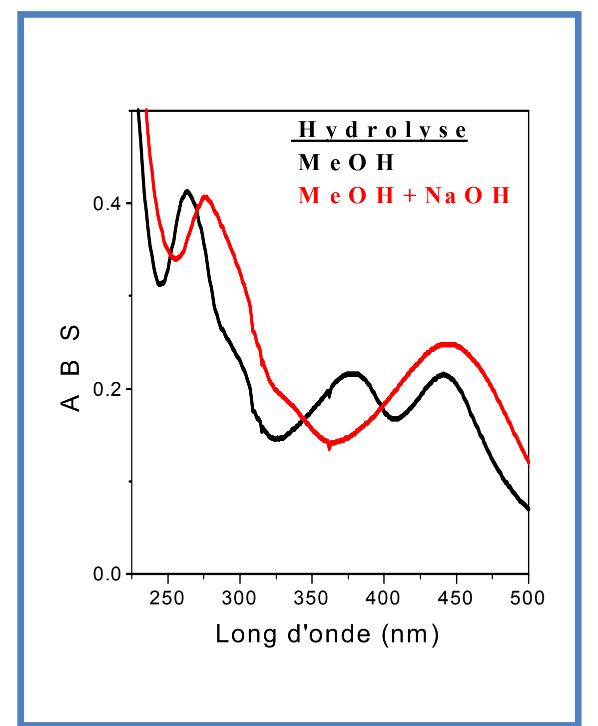
الشكل-2-: تكبير ^{1}H RMN للمركب F_{4P} في المجال 8-5 ppm

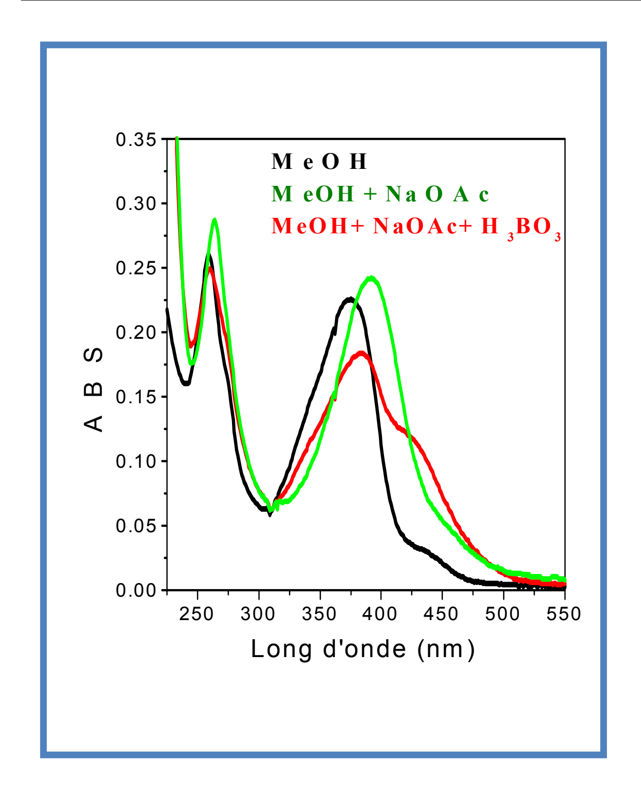


الشكل-2-: تكبير ^{1}H RMN للمركب F_{4P} لبروتونات المستبدل السكري للمركب F_{4P} في المجال 4-3 ppm









الشكل-4-: سلاسل مطيافية (UV) للمركب F_{4P} مع مختلف الكواشف

II- التعيين البنيوي للمركب $C_P \equiv D_P \equiv D_{P1} \equiv D_6 \equiv F_{P2}$:

نأخذ المركب **C** كمثال للدراسة نظرا لتشابهه مع المركبات الأخرى:

II-1-**السلوك الكروماتوغرافي:**

*اللون الاستشعاعي تحت الأشعة فوق البنفسجية: أصفر.

*معامل الاحتباس (R_f): توضح قيم معامل الاحتباس في الجدول (5).

جدول -5-

الجملة	$R_f \times 100$
I	20.55
II	22.22
III	11.93

II-2- المعطيات الطيفية:

II-2-1-مطيافية الأشعة فوق البنفسجية :

الجدول –6– نتائج (UV)

الكواشف	العصابة II (ن.م)	العصابة I (ن.م)
MeOH	259	374
NaOH	265	437
NaOH+5min	الطيف غير مستقر	
$AlCl_3$	270	442
$AlCl_3$+HCl	270	431
NaOAc	259	424-383

393	264	$NaOAc+H_3BO_3$

II-2-2- **مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون :**

*** الجدول -7- نتائج RMN(^{1}H) ***

الإزاحة(δ.ppm)	**التعددية(J.Hz)**	**التكامل**	**رقم الهيدروجين**
6.91	8.52 *d*	1H	H5'
7.8	2.12 *d*	1H	H2'
7.7	8-2 *dd*	1H	H6'
6.92	*s*	1H	H8
3.91	*s*	3H	$O-CH_3$
5.13	7.34 *d*	1H	H-1"
3.96	12.1-2.1 *dd*	1H	H-6''a
3.74	11.8-5.7 *dd*	1H	H-6''b
3.56-3.64	7 *t* 8 *t*	2H	H-4'', H-3''
3.46	9-9 *t*	1H	H-2''
3.55-3.65	*m*	1H	H-5''

II-2-3- الحلمهة الحمضية :

✓ الشق الأجليكوني :

- اللون الإستشعاعي: أصفر
- مطيافية(UV) :

الكاشف	العصابة II (ن.م)	عصابة جديدة	العصابة I (ن.م)
MeOH	263	-	375
NaOH	280	330	438

II-3- التعليل :

يشير السلوك الكروماتوغرافي في مختلف الجمل إلى كون المركب ايتروزيدا (أحادي السكر).

- اللون الأصفر تحت الأشعة UV و قيمة العصابة I في الميثانول (MeOH) λ_I=374 nm يدلان على أنه عبارة عن فلافونول مع وجود OH حر في الموضع 3.

- الإزاحة الباثوكرومية بـ : $\Delta\lambda_I$ (NaOH/MeOH) = +63 nm، مع انخفاض في شدة الامتصاص الضوئية (DO↓) تدل على غياب OH حر في الموضع '4، واستمرار تناقص شدة الامتصاص مع مرور الوقت تدل على إمكانية وجود أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A .

- غياب عصابة ما بين 320-335 nm تدل على غياب OH حر في الموضع 7 أي 7-OR وهذا ما يؤكده انعدام الإزاحة للحزمة II في الطيف المسجل بوجود NaOAc.

- الإزاحة الباثوكرومية بـ: $\Delta\lambda_I$ ($AlCl_3$+HCl / MeOH) = +57 nm دليل على وجود OH حر في الموضع 5 مع وجود OH حر في الموضع 3.

- الإزاحة الباثوكرومية بـ: $\Delta\lambda_I$ (NaOAc+H_3BO_3/MeOH) = +18 nm دليل على وجود أورثو ثنائي الهيدروكسيل على الحلقة.

أما بالنسبة لطيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون فكانت النتائج كما يلي:

* إنّ وجود إشارات لبروتونات عطرية في المجال المنخفض ذات التعددية: *d* فـ *dd* ثم *d* تدل على كون الحلقة B ثنائية الاستبدال و عليه-إضافة لما سبق- فإن الموضعين 3',4′ مستبدلان بمجموعتين أكسوجينيتين حيث حتما OR في 4′.

- أما بروتونات الحلقة A فتظهر في مجال البروتونات العطرية (لكن في مجال أعلى من بروتونات الحلقة B) على شكل إشارة أحادية عند 6.92 ppm خاصة بالبروتون 8 و مع وجود نظام أورثو ثنائي هيدروكسيل على الحلقة A هذا يعني أن الموقع 6 مستبدل بمجموعة هيدروكسيل حرة.

- وجود مجموعة ميثوكسيل عند 3.91 ppm، وكون الموضعان 7 و '4 مستبدلين بمجموعة OR يعني: 4'-OMe و 7-OSucre أو 4'-OSucre و 7-OMe.

- وجود إشارة لثنائية *d* (*J* = 7.34) عند: δ= 5.13 ppm تلحق بالبروتون الأنوميري للمستبدل السكري.

و قيمة الانزياح الكيميائي للبروتون الأنوميري تدل على أن المستبدل السكري يتصل مع الأجليكون برابطة من نوع كربون-أكسجين C-O ، أما بالنسبة لقيمة ثابت التزاوج فتدل على أن توجيه البروتون H-2’’ محوري (axial) ما يقودنا إلى افتراض أن المستبدل السكري عبارة عن جلوكوز أو جلاكتوز (من نوع β-glucose.أوβ-galactose).

كما يبين الطيف إشارتين من نوع *dd* الأولى عند 3.97 ppm (*J*= .12.1-2.1 Hz.) الثانية عند 3.74 ppm (*J*=11.8 -5.7.Hz) تنسبان إلى البروتونين "H-6a و H-6"b على التوالي .

و تظهر في المجال 3.56-3.64 ppm إشارتين على شكل ثلاثي (*t*) بثابت تزاوج *J* = 7 Hz وHz *J* = 8 يمكن إلحاقهما بالبروتونين "H-3 و "H-4 .

كما تظهر إشارة *t* عند 3.46 ppm بثابت تزاوج $J = 9.$ Hz تلحق بالبروتون H-2’’.

أما البروتون H-5’’ فظهر في المجال 3.50-3.7 ppm.

من المعلومات السابقة و نظرا لقيم ثوابت التزاوج بين البروتونين "H-3 و "H-4 حيث يمثل التزاوج من نوع محوري –محوري (axial-axial) نستنتج أن "H-4 ذو اتجاه محوري (axial) ؛ ما يرجح أن المستبدل السكري هو الجلوكوز.

ومنه فصيغة المركب C_P تكون من الشكل :

R_1=Me, R_2=Sucre

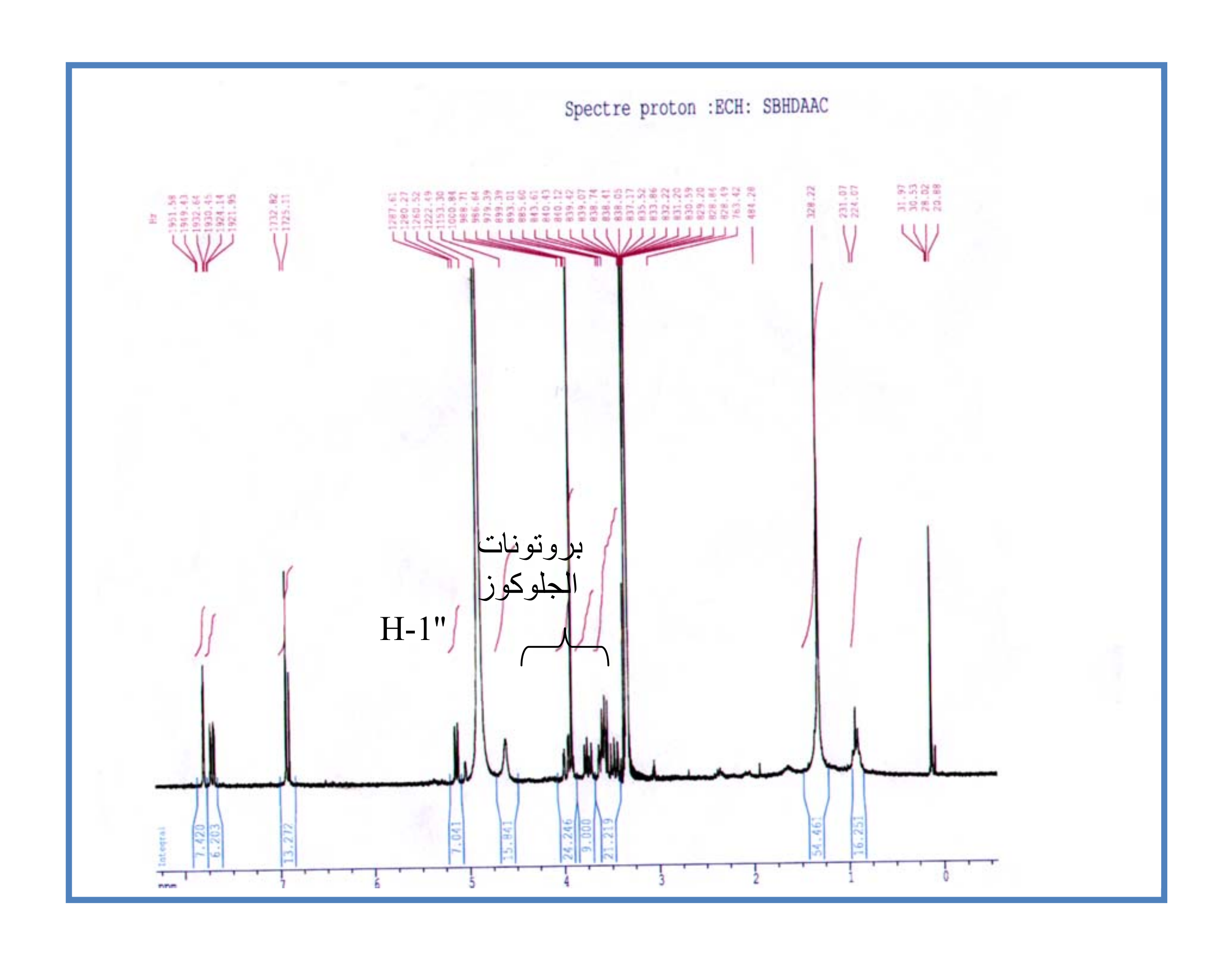
R_1=Sucre, R_2=Me

وللتأكد من الصيغة النهائية قمنا بإجراء الحلمهة الحمضية للمركب لمعرفة نوع السكر وكذا وضع ارتباطه بتسجيل طيف الأشعة البنفسجية للأجليكون المحصل عليه في وجود الكاشف NaOH فظهرت عصابة جديدة عند 333 nm ما يدل على وجود مجموعة هيدروكسيل حرة في الموضع 7 (7-OH)؛ أين كانت تتموضع مجموعة السكر. ويتمثل هذا الأخير في الجلوكوز.

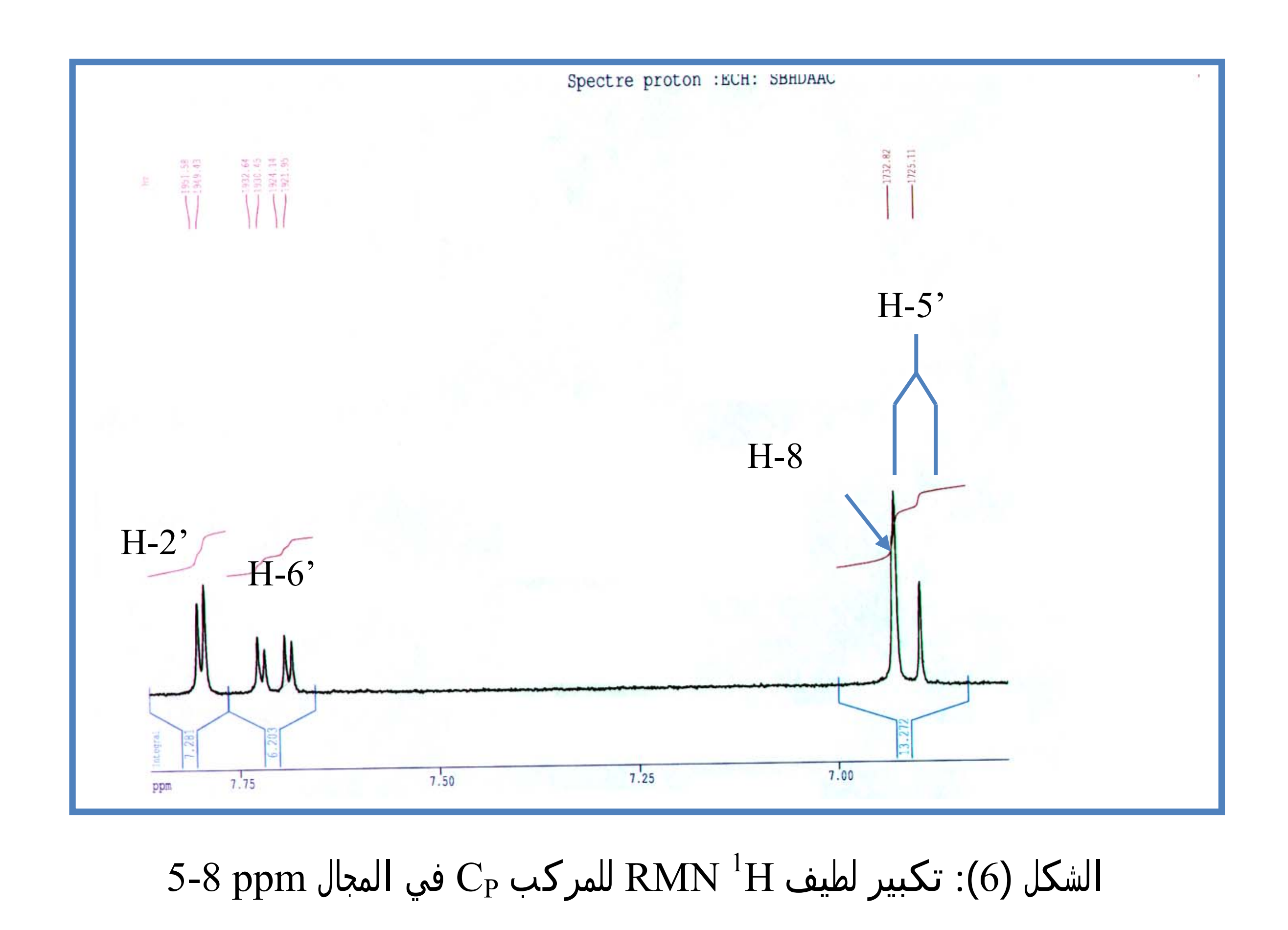
ومنه فان صيغة المركب C تكون كالتالي :

Quercetin 4’-methyl ether 7-O-β-D-Glucoside

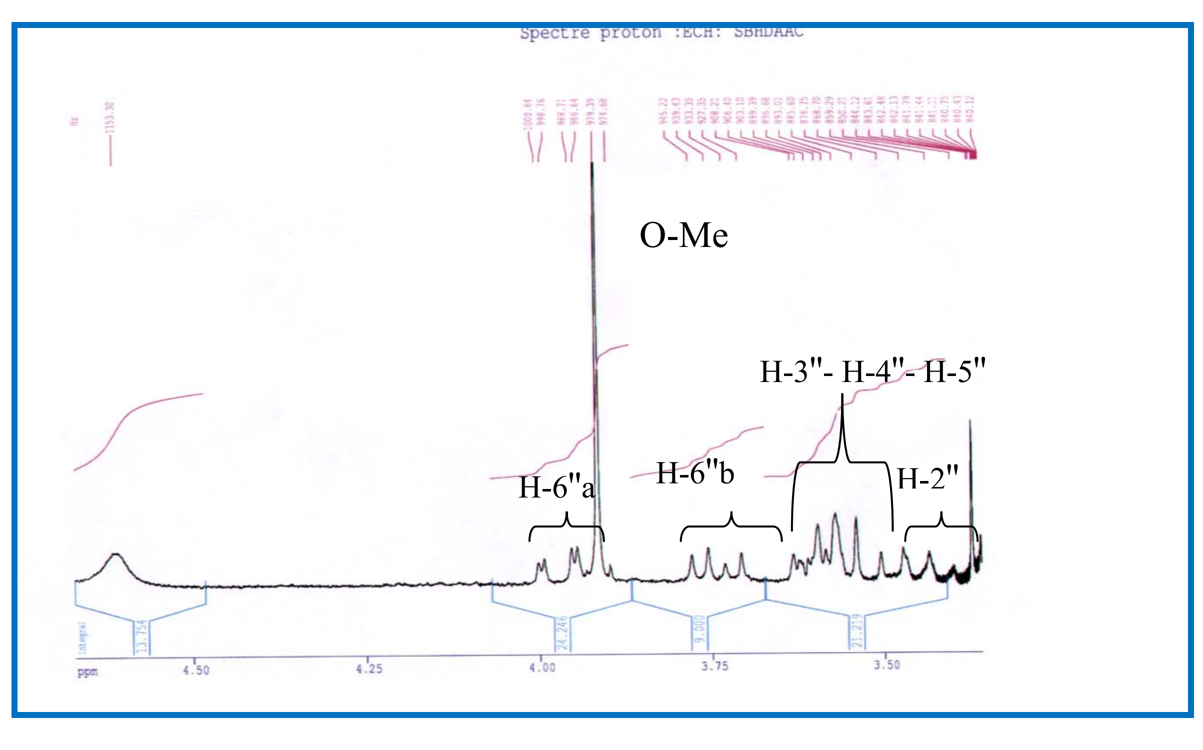
الشكل (5) يبين طيف الرنين النووي المغناطيسي للبروتون للمركب C_P والشكلين (6) و(7) توسيع للطيف في مختلف المجالات أما الشكل (8) فيبين سلاسل طيف الأشعة فوق البنفسجية مع مختلف الكواشف.



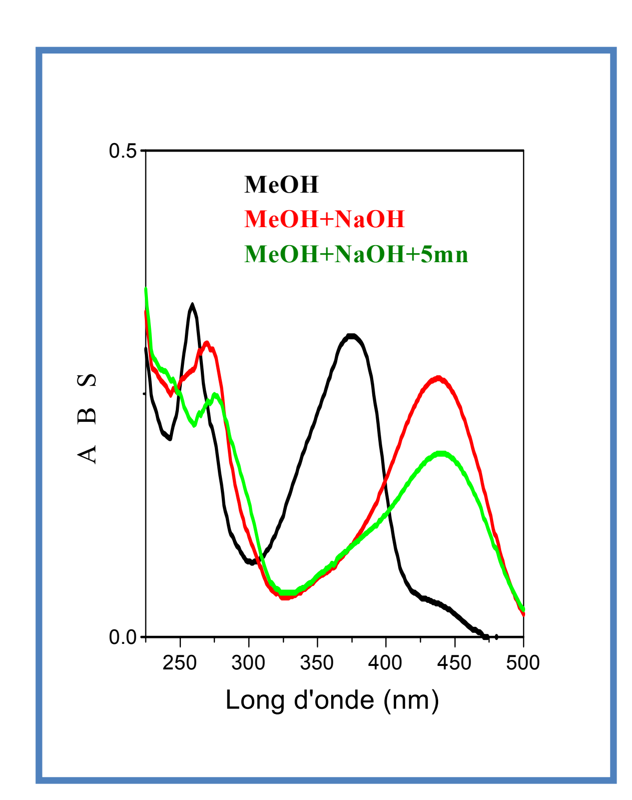
الشكل (5) : مطيافية الرنين النووي المغناطيسي للبروتون للمركب C_P

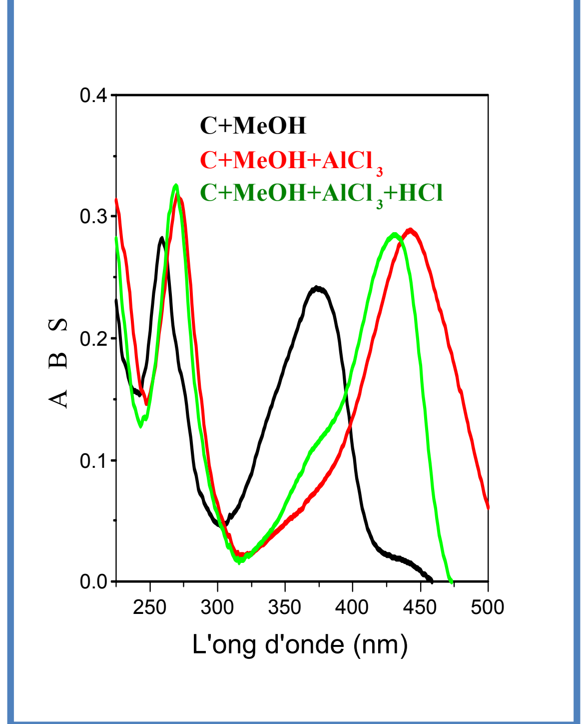


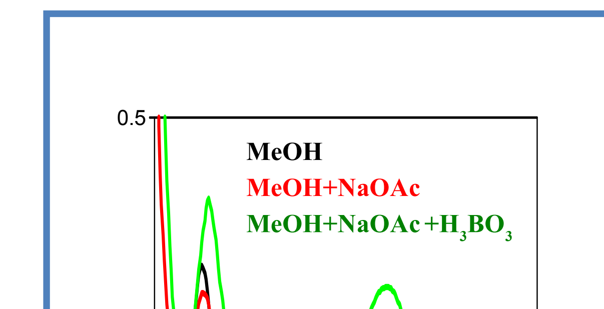
الشكل (6): تكبير لطيف ^{1}H RMN للمركب C_P في المجال 5-8 ppm

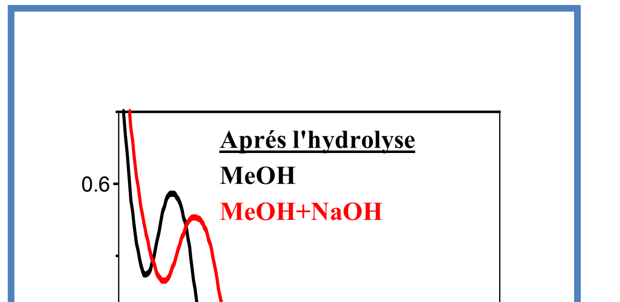


الشكل (7): توسيع لطيف ^{1}H RMN لبروتونات المستبدل لسكري للمركب C_P في المجال 1-4 ppm









شكل(8): مطيافية الأشعة فوق البنفسجية (UV) للمركب C_P مع مختلف الكواشف

III-الحصيلة و النظام الحيوي الوراثي لمخـزون المركبـات المفصـولة لنبـات *Pulicaria crispa* :

لقد كانت حصيلة دراسة الأيض الفلافونيدي لنبات *Pulicaria crispa* مركبين، و يشير النظام الحيوي الوراثي لهذين المركبين الفلافونيديين إلى كونها تتبع مسلك وراثي وحيد و هو الفلافونول و يتمثل في نمط أساسي و هو الـ Quercetine ؛ هذا الأخير يتفرع منه المركبين المفصولين والمخطط مبين في الشكل (12):

** Patuletin 7-glucoside

** Quercetagetin 4'-methyl ether 7-glucoside

Chalcone ⇌ Flavone

F$_{4P}$

C$_P$

الشكل-9-: مخطط النظام الحيوي الوراثي للفلافونيدات المفصولة من نبات
Pulicaria crispa

الخاتمة

استطعنا من خلال هذا البحث فصل المركبات الفلافونيدية و التي تعتبر من نواتج الأيض الثانوي من الطور البوتانولي للنبتة (Forsk) *Pulicaria crispa*، وخلال قيامنا بهذا البحث أجرينا دراسة بيبليوغرافية عن كل من النبتة المدروسة و المركبات الفلافونيدية.

و قد اتبعنا في عملية الفصل الخطوات الآتية:

-الفصل الأولي بواسطة كروماتوغرافيا العمود.

-الفصل باستخدام كروماتوغرافيا الورق، و الطبقة الرقيقة (ذات الدعامة متعدد الأميد و السيليكاجال).

-و أخيرا التنقية باستخدام كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة ذات الدعامة –سيليكاجال-.

أما في عملية التعيين البنيوي فقد استخدمنا كلا من الإماهة الحمضية، مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV، و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي RMN ^{1}H.

و بذلك تم فصل مركبين فلافونيديين هما:

*Patuletin 7-*O*-β-D-glucoside

*Quercetagetin 4’-methyl ether 7-*O*-β-D-glucoside

بالنسبة للمركب الأول فقد فصل لأول مرة بالنسبة للنوع، أما المركب الثاني فقد فصل لأول مرة من الجنس.

الملخص

هدفنا الرئيسي من هذا البحث هو فصل وتحديد منتجات الأيض الفلافونيدي للطور البوتانولي للنبتة (Forsk) *Pulicaria crispa* التي تنتمي إلى العائلة المركبة، وقد تمكنا من فصل مركبين فلافونيديين باستعمال مختلف التقنيات الكروماتوغرافية (كروماتوغرافيا العمودCC، كروماتوغرافيا الورقCP، كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة CCM). و باستعمال الإماهة الحمضية و مختلف الطرق الفيزيائية من مطيافية الأشعة فوق البنفسجية UV و مطيافية الرنين النووي المغناطيسي $RMN\ ^{1}H$ تم تحديد بنى المركبات المفصولة:

*Patuletin 7-*O*-β-D-glucoside

*Quercetagetin 4’-methyl ether 7-*O*-β-D-glucoside

Résumé

L'objectif principal de ce travail est d'identifier des métabolites secondaires (flavonoïdes) de la plante *Pulicaria crispa* (Forsk) appartenant à la famille des composées (Asteraceae).

L'utilisation des différentes méthodes de séparation chromatographiques (colonne, papier couche mince) a permis d'isoler deux composés flavonique, et grâce à l'hydrolyse acide et aux méthodes spectroscopiques usuelles (UV et RMN ^{1}H), les structures de ces flavonoïdes ont été établies comme suivant :

*Patuletin 7-*O*-β-D-glucoside

*Quercetagetin 4'-methyl ether 7-*O*-β-D-glucoside

Abstract

The principal aim of the present work consisted to identify the secondary metabolites (flavonoids) of *Pulicaria crispa* (Forsk) belonging to the compositae (Asteraceae) family.

The use of the different chromatographic methods (column, paper, thin layer) permitted the isolation of two flavonoids and with using acid hydrolysis and usual spectroscopic methods (UV, ^{1}H NMR), the structures of this compounds were established as:

*Patuletin 7-*O*-β-D-glucoside

*Quercetagetin 4'-methyl ether 7-*O*-β-D-glucoside